

**FACULTE DE MEDECINE
BROUSSAIS HOTEL-DIEU
UNIVERSITE PARIS VI**

ANNEE 1971

THESE

N^o

36

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

P A R

Yves GIUDICELLI

Né le 26 mars 1942 à PARIS XII

Pharmacien

Ancien Interne Lauréat des Hôpitaux de PARIS

Diplômé d'Etudes approfondies de la Faculté des Sciences de PARIS

Assistant à la Faculté de Médecine de PARIS

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE :

CONTRIBUTIONS A L'ETUDE DES LIPIDES DU TISSU ADIPEUX

Recherches personnelles concernant les phospholipides

des tissus adipeux épididymaire de Rat et

sous-cutané abdominal de l'Homme

Président : M. R. NORDMANN, Professeur

EDITIONS MEDICALES



ET UNIVERSITAIRES

40, rue Pascal - PARIS XIIIe

**FACULTE DE MEDECINE
BROUSSAIS HOTEL-DIEU
UNIVERSITE PARIS VI**

ANNEE 1971

THESE

N^o

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

P A R

Yves GIUDICELLI

Né le 26 mars 1942 à PARIS XII

Pharmacien

Ancien Interne Lauréat des Hôpitaux de PARIS

Diplômé d'Etudes approfondies de la Faculté des Sciences de PARIS

Assistant à la Faculté de Médecine de PARIS

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE :

CONTRIBUTIONS A L'ETUDE DES LIPIDES DU TISSU ADIPEUX

Recherches personnelles concernant les phospholipides

des tissus adipeux épидидymaire de Rat et

sous-cutané abdominal de l'Homme

Président : M. R. NORDMANN, Professeur

EDITIONS MEDICALES



ET UNIVERSITAIRES

40, rue Pascal - PARIS XIIIe



A ma Mère, en témoignage de l'amour qu'elle m'a toujours prodigué.

A mon Père, qui m'a orienté le premier vers la Recherche scientifique et dont la vie de travail est un exemple.

A ma Femme, dont l'affection a été si constamment précieuse au cours de ce travail, avec tout mon amour.

A mes Beaux - Parents, en gage de mon affection.

A mes Frères, Jean-François et Henri.

A ma soeur Florence.

A la mémoire de mon Parrain.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A Monsieur le Professeur R. NORDMANN
Professeur à la Faculté de Médecine de PARIS.

qui nous a fait l'honneur de présider notre jury et de nous accueillir dans son laboratoire. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse reconnaissance et de notre dévouement.

A Monsieur le Professeur M.-F. JAYLE
Professeur à la Faculté de Médecine de PARIS.

nous avons eu le privilège de suivre son enseignement magistral, de profiter de sa grande expérience et de ses conseils, de participer aux activités de son service. En témoignage de notre respectueuse admiration.

A Monsieur le Professeur J. POLONOVSKI
Professeur à la Faculté de Médecine de PARIS.

qui par son enseignement a su éveiller en nous, l'intérêt de la Biochimie et le désir de réaliser ce travail de Recherche sur les Lipides. En hommage respectueux et reconnaissant.

A Monsieur le Professeur M. PASCAUD
Professeur à la Faculté des Sciences de PARIS.

dont les conseils nous ont été précieux.
Qu'il en soit remercié.

A Madame le Docteur G. di COSTANZO
Chargée de Recherche au C.N.R.S.

qui nous a accueilli avec bienveillance dans son unité de Recherche ; qui, mettant à notre disposition toutes les ressources de son laboratoire, a guidé nos premiers pas de Recherche, en ne cessant de s'intéresser à nos travaux, tout en nous faisant bénéficier de son expérience. En témoignage de notre respectueuse gratitude.

Au Docteur P. di COSTANZO
Maître de Conférences agrégé de la Faculté de Médecine de PARIS.

qui nous a inspiré le sujet de cette thèse et dont l'aide nous a été précieuse pour sa rédaction. Qu'il soit ici remercié pour l'intérêt qu'il nous a toujours porté.

A Monsieur D. MATHIEU

pour la précieuse collaboration technique qu'il nous a apportée dans la réalisation de ce travail. En gage de notre amitié.

A Mesdemoiselles M. FERNANDEZ DIAZ et F. DESCHAMPS

pour le travail de secrétariat. Avec nos remerciements.

A nos Patrons d'Internat :

- Monsieur le Professeur J. CHEYMOL
Professeur honoraire de la Faculté de Médecine
de PARIS.

- Monsieur G. HAZEBROUCK
Maître de conférences agrégé de la Faculté
de Pharmacie de PARIS.

A tous nos maîtres des Facultés de Médecine et de Pharmacie
de PARIS.

MEIS et AMICIS

CONTRIBUTIONS A L'ETUDE DES LIPIDES DU TISSU
ADIPEUX. RECHERCHES PERSONNELLES CONCERNANT
LES PHOSPHOLIPIDES DES TISSUS ADIPEUX EPIDI-
DYMAIRE DE RAT ET SOUS-CUTANE ABDOMINAL DE
L'HOMME.

INTRODUCTION

Le tissu adipeux, trop longtemps considéré comme un tissu plus ou moins inerte, dans lequel s'accumulent les graisses avant de s'en échapper, est devenu ces dernières années, l'objet de nombreux travaux de recherche, depuis que l'on se penche sur les graves problèmes de la nutrition dans le monde. En effet, si la majeure partie de l'humanité ne reçoit qu'une alimentation encore insuffisante, une minorité absorbe généralement une ration alimentaire quantitativement supérieure à ses propres besoins et qualitativement déséquilibrée. Ce double déséquilibre se traduit le plus souvent par une pathologie caractéristique et meurtrière, aux premiers rangs de laquelle figurent le Diabète et l'Athérosclérose, tous deux fréquemment associés à l'obésité.

De nombreuses investigations biochimiques, physiologiques, histologiques, ont révélé l'existence d'une intense activité métabolique au sein du tissu adipeux (164)

Celle-ci peut se résumer par le double mécanisme suivant : d'une part, la lipogénèse c'est-à-dire la biosynthèse des graisses et leur stockage sous forme de Triglycérides, d'autre part la lipolyse, soit l'hydrolyse en glycérol et acides gras des Triglycérides stockés, suivie de l'oxydation complète des acides gras libérés ou de leur transfert dans la circulation.

Ces réactions, régulées par divers facteurs, notamment les hormones, vont avoir des répercussions sur l'ensemble de l'organisme et en particulier sur les comportements alimentaire et locomoteur. La complexité de tous ces mécanismes biochimiques explique la fréquence de ces altérations, aussi bien que les rapports étroits qui existent entre la pathogénie de l'obésité et une anomalie métabolique siégeant au niveau du tissu adipeux.

Le travail que nous exposons comporte deux parties distinctes :

- la première, bibliographique, traite des mécanismes biochimiques normaux qui concourent à l'activité métabolique de ce tissu étudié "in vitro" et "in vivo" chez le Rat.

- la seconde se propose de rapporter les résultats de quelques expériences personnelles concernant plus particulièrement l'étude analytique des Phospholipides des tissus adipeux du Rat et de l'Homme.

I ère PARTIE

LE METABOLISME DU TISSU ADIPEUX

1 - LES METHODES D'ETUDES

La plupart des études conduites "in vitro", ont été réalisées sur du tissu adipeux épидидymaire isolé, de Rat ou de Souris. Cette préférence doit être attribuée, d'une part, à la commodité d'accès donc de prélèvement de ce tissu, et à sa morphologie parfaitement adaptée aux expériences d'incubation, d'autre part, et enfin à sa sensibilité et son extrême réactivité à certains agents hormonaux.

Cependant, dans le but précis de localiser et de mesurer l'activité de certains systèmes enzymatiques, d'autres expériences ont été réalisées notamment sur :

- des homogénats (249) (223) (100).
- des surnageants de centrifugation (146) (176) (177)
- des extraits purifiés, délipidés et secs (121) (122) .

De nombreuses études ont toutefois mis l'accent sur l'existence de différences significatives résultant, soit dans la même espèce d'origines tissulaires différentes, soit pour le même tissu, de prélèvements effectués sur des espèces différentes. (187) (191) (189) (245) (246) (96) (257) (258) (213) (76)

De plus, des différences frappantes ont été observées dans l'intensité de certaines réactions, les unes étudiées sur des fragments incubés, les autres sur tissus perfusés (194) (99), enfin sur des cellules entières incubées (183).

Un grand progrès a été fait d'ailleurs dans ce dernier type d'étude, par Rodbell (183) qui a mis au point une technique de préparation d'adipocytes isolés, métaboliquement actifs, et dont la réponse aux agents hormonaux est sensiblement identique à celle du tissu entier (183).

Enfin, il est nécessaire de rappeler que dans toute préparation, excepté bien entendu, les expériences sur tissus perfusés, les effets probablement importants, exercés par les flux sanguins et plasmatiques au travers de toute structure tissulaire adipeuse, sont négligés, et doivent donc conduire à la prudence quant à une quelconque généralisation "in vivo".

2.-LE METABOLISME DU TISSU ADIPEUX

L'analyse des enzymes cytoplasmiques du tissu adipeux a été entreprise ces dix dernières années. Cependant les résultats obtenus restent très fragmentaires. La cause réside probablement, pour une large part, dans le fait que le cytoplasme n'occupe qu'une faible partie du volume cellulaire (47), environ 10 % en poids, et aussi dans les difficultés d'ordre technique, qui surgissent lors de la préparation d'un homogénat de tissu renfermant 90 % de lipides. De ce fait, la plupart des informations concernant le métabolisme du tissu adipeux, sont obtenues indirectement et reposent sur l'analyse des produits formés, après incubation en présence de substrats radioactifs ou non.

Schématiquement, la physiologie du tissu adipeux peut se diviser en trois fonctions principales. La première comprend la synthèse d'Acides gras à longues chaînes à partir de nombreux substrats, en particulier du glucose. La deuxième concerne la mise en réserve des Acides gras sous forme de Triglycérides, dans la vacuole graisseuse de l'Adipocyte. La dernière fonction est l'activité lipolytique grâce à laquelle les Triglycérides sont dégradés, par hydrolyse, en acides gras libres et glycérol qui sont libérés dans le sang.

I/ La BIOSYNTHESE DES ACIDES GRAS

La Biosynthèse des Acides Gras est généralement considérée comme l'une des fonctions majeures du tissu adipeux. Le système enzymatique extramitochondrial responsable de la synthèse, l'Acétyl Co A carboxylase et l'Acide Gras synthétase, a été identifié et purifié dans le tissu adipeux de nombreuses espèces, y compris l'Homme (108) ; l'importance d'un autre système intramitochondrial reste à préciser.

1) Biosynthèse des Acides Gras saturés.

MARTIN et VAGELOS, en 1962 (146), montrent les premiers l'existence de l'Acétyl Co A carboxylase dans le tissu adipeux du Rat. Peu avant, les mêmes auteurs (147) et GANGULY (66) isolent la Palmitate synthétase dans ce même tissu.

Le système complet présente les mêmes caractéristiques que ses homologues de la levure ou du foie de Pigeon.

L'Acétyl Co A carboxylase utilise le CO_2 , l'Acétyl Co A et l'ATP comme substrats, et produit du 2 Malonyl Co A. Elle nécessite en outre la présence de Manganèse. Son activité cesse en présence d'Avidine : elle est biotino dépendante. Elle catalyse la réaction clef de la synthèse des acides gras : la vitesse de celle-ci règle, en effet, l'ensemble du processus, comme c'est d'ailleurs le cas dans les autres tissus, où cet enzyme est présent. De plus, l'Acétyl Co A carboxylase a une régulation allostérique particulière : son activateur est le Citrate (ou l'Isocitrate), ses inhibiteurs sont les Acides Gras à longue chaîne.

L'Acide Gras synthétase utilise l'Acétyl Co A, le Malonyl Co A, en présence du NADPH, H^+ .

L'Isobutyryl Co A peut remplacer l'Acétyl Co A, le produit obtenu dans ce cas est l'Isopalmitate (181).

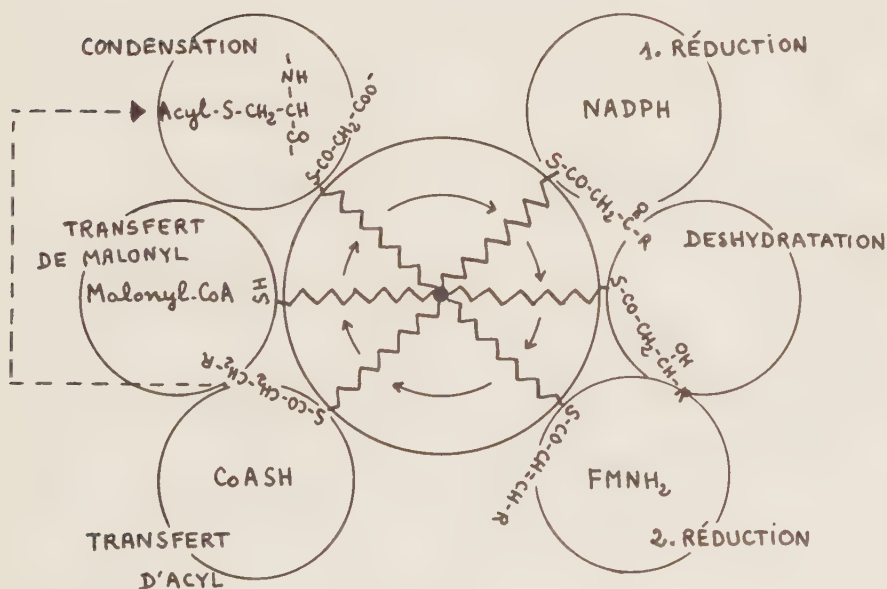
La spécificité de la Palmitate synthétase à l'égard du Malonyl Co A est rigoureux : le Méthyl - Malonyl Co A, par exemple, ne peut être métabolisé par l'enzyme. Par contre, le β Hydroxy (D -) butyryl Co A, produit intermédiaire de la chaîne réactionnelle, peut être directement incorporé au système, ses carbones se retrouvant dans le squelette carboné des Acides Gras à longue chaîne (181).

En définitive, dans le tissu adipeux, la biosynthèse des Acides Gras saturés semble être en tout point identique à celle qui existe dans les autres tissus, en particulier le foie. En outre, les activités de l'Acide Gras synthétase et de l'Acétyl Co A carboxylase ne semblent pas modifiées par l'addition d'ACTH, STH, Insuline, Adrenaline, Nor Adrenaline, Thyroxine, ni par l'adjonction dans le milieu d'incubation des diverses hormones stéroïdes.

2) Biosynthèse des Acides Gras insaturés.

Un système responsable de la biosynthèse d'Acides Gras monoinsaturés, a été décrit dans le tissu adipeux, aussi bien que dans des préparations acellulaires de ce même tissu (12). Le mécanisme requiert de l'oxygène ; sont intensité varie selon l'âge : par exemple chez le jeune Rat de 60 jours, la production d'acide Palmitoléique et Oléique, est quadruple de celle du Rat de 1 an. L'Insuline a pour effet d'augmenter la biosynthèse des Acides Gras insaturés comme d'ailleurs c'est le cas pour les autres tissus (69).

Tout porte donc à penser que le système responsable est parfaitement semblable à celui qui a été décrit dans d'autres tissus, en particulier le foie, et la glande mammaire.



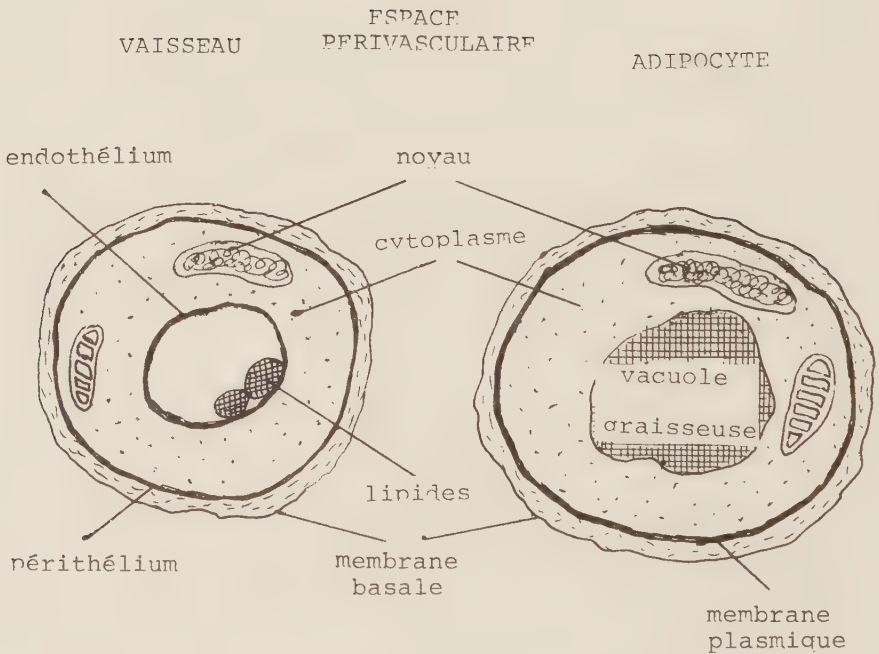
Fonctionnement de la Palmitate synthétase

d'après F. LYNEN (138).

II/ La CAPTATION DES LIPIDES CIRCULANTS

=====

"In vivo", les acides gras circulants existent sous deux formes différentes : soit estérifiés par le glycérol et incorporés dans ces complexes que représentent les chylomicrons et plus généralement les lipoprotéines, soit non estérifiés et associés dans ce cas à l'albumine sérique. Quelque soit la forme sous laquelle ils se présentent au tissu adipeux, les acides gras sont détachés de leur support protéique, et cheminent ensuite lentement au travers de nombreuses structures anatomiques schématisées ci-dessous.



a) Histologie de la captation

Pour être mises en réserve, les graisses présentées aux adipocytes doivent franchir successivement, l'endothélium vasculaire, le cytoplasme endothélial, le périthélium, enfin la membrane basale.

Après avoir cheminé dans l'espace périvasculaire il leur faut encore traverser la membrane basale, la membrane plasmique et le cytoplasme de l'adipocyte, avant de s'incorporer dans la vacuole graisseuse centrale.

La microscopie électronique du cytoplasme de l'adipocyte normal a révélé sa grande richesse en mitochondries, en granules de ribonucléoprotéines, en fragments de réticulum endoplasmique, et aussi un nombre appréciable de microvésicules (158).

Dans les conditions expérimentales favorables au transport des lipides, depuis la lumière vasculaire vers le tissu adipeux (animal privé de nourriture puis réalimenté), aucune formation lipidique n'est morphologiquement décelable dans l'espace périvasculaire (247) (259). Par contre dans de tels tissus, de nombreuses gouttelettes lipidiques sont présentées à la périphérie du cytoplasme : on note aussi une grande accumulation de chylomicrons en bordure de la lumière vasculaire. Ces deux constatations montrent d'une part, que les cellules étudiées accumulent des lipides, d'autre part que les chylomicrons sont eux-mêmes à l'origine des lipides nouvellement acquis par le tissu.

L'absence de gouttelettes dans l'endothélium et dans l'espace périvasculaire suggère que les chylomicrons sont hydrolysés ou dégradés, avant ou pendant leur transport dans l'endothélium.

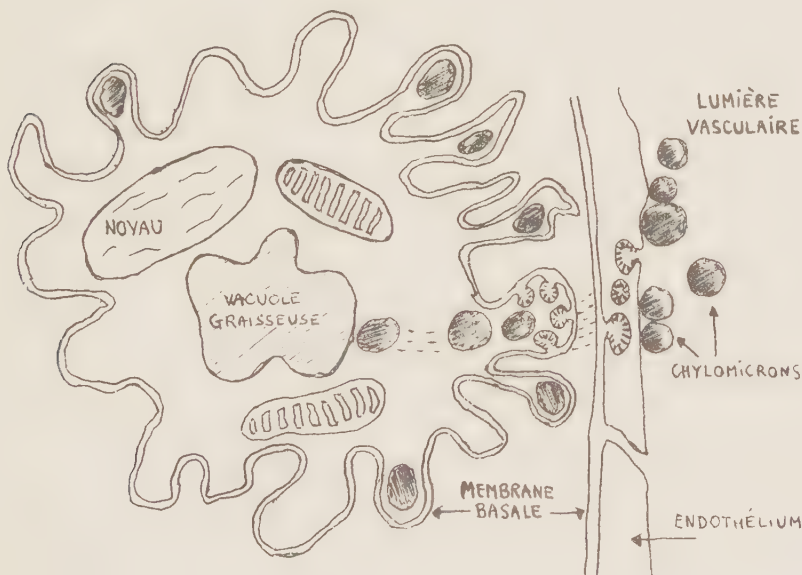
D'autre part de nombreuses expériences viennent à l'appui de la thèse biochimique, de l'existence d'un enzyme, la lipoprotéine lipase, responsable de l'hydrolyse des Triglycérides des chylomicrons, et localisé dans l'endothélium, ou dans son voisinage immédiat (179) (180) (234). L'existence aussi de mastocytes au sein du stroma vasculaire du tissu adipeux, a été postulée. Ainsi se trouve assurée normalement l'activation de la lipoprotéine lipase par l'Héparine (93) (158) (204).

Nombreuses sont les indications prouvant que la membrane basale périvasculaire pourrait interférer très probablement avec le mouvement de particules lipidiques, de la taille des chylomicrons ; d'ailleurs dans la plupart des tissus, cette membrane assume la fonction de tamis,

En résumé, l'histologie de la captation des graisses par le tissu adipeux peut se décomposer ainsi :

- les Triglycérides des chylomicrons, en contact avec la membrane plasmatique de l'endothélium sont hydrolysés par la lipoprotéine lipase. Les Acides Gras libres formés, induisent la formation de vésicules au sein de la membrane plasmatique ; ils sont véhiculés au travers de l'endothélium, dans la paroi interne, ou dans la lumière des vésicules. A l'extrémité opposée, les vésicules fusionnent avec la membrane plasmatique, et éclatent, relachant ainsi les Acides Gras libres dans l'espace péri-vasculaire.

- les Acides Gras, liés probablement à l'Albumine, sont alors transférés dans la cellule adipeuse, où à nouveau ils provoquent la formation de vésicules au sein de la membrane plasmique, et pénètrent ainsi dans la cellule. Aussitôt, les Acides Gras libres sont estérifiés en Triglycérides, ceux-ci s'organisent en agrégats de plus en plus gros, pour finalement constituer la large vacuole centrale. (d'après WILLIAMSON) (259).



b) Biochimie de la captation

1 - Captation des Triglycerides.

Δ) "IN VITRO"

Dans le sang, les Triglycérides sont transportés sous forme de chylomicrons et de lipoprotéines, c'est à-dire des édifices moléculaires complexes, comprenant un mélange de phospholipides, de cholestérol, de protéines en plus des Triglycérides. De tous ces composés lipidiques seuls les Triglycérides sont ceux que l'on rencontre en grande quantité dans le tissu adipeux. Déjà en 1954, STERN et SHAPIRO (221) mentionnaient que des fragments de tissu adipeux incubés dans du sérum, n'assimilaient que les Triglycérides. De même, en utilisant des émulsions artificielles, seuls sont captés les esters neutres d'acides gras et les acides gras non estérifiés.

Le processus de captation des Triglycérides a été envisagé comme dépendant étroitement des mécanismes métaboliques tissulaires. L'assimilation des Triglycérides est en effet abolie par chauffage du tissu à 60 °C, freinée par l'abaissement de la température, enfin inhibée par les poisons métaboliques tels que les Cyanures et les fluorures (203). Bien que les fluorures n'exercent aucun effet sur l'assimilation des acides gras non estérifiés, il fut postulé que les réactions de synthèse et d'hydrolyse des liaisons esters facilitaient le transport des graisses dans le tissu adipeux (221). Plus tard d'autres expériences montrèrent l'implication directe des mécanismes d'estérification dans l'assimilation des Acides Gras non estérifiés (200) (201). Cependant pour ce qui concerne l'assimilation des Triglycérides, les données sont moins nettes.

RODBELL (182) poursuit ces recherches en faisant l'étude comparative de la captation des chylomicrons et d'émulsions synthétiques de Tripalmitine à 14 °C. Il montre que les protéines sériques constitutives des chylomicrons, ne sont pas nécessaires à l'assimilation des Triglycérides. Les inhibiteurs de la lipolyse tels que le di-isopropylfluorophosphate (DFP) n'affectent pas le transfert des Triglycérides du milieu, au sein du tissu adipeux. Il fut conclu alors que le processus avait lieu sans hydrolyse préalable. Les Triglycérides seraient donc captés intacts, dans un compartiment tissulaire dans lequel, ils ne seraient plus échangeables avec les Triglycérides du milieu d'incubation, ni extractibles, par simple lavage.

Les Triglycérides captés seraient ensuite dégradés puis resynthétisés par des réactions d'hydrolyse et d'estérification.

Ces processus sont remarquablement inhibés par les "poisons" de la lipolyse (D F P) ainsi que par les cyanures et le dinitrophénol, substances qui pourraient intervenir au niveau de la réestérification.

Il fut aussi montré que l'état nutritionnel du tissu avait son importance : les réactions d'hydrolyse et d'estérification étant plus intenses dans le tissu de Rat gavé que dans celui du Rat soumis au jeûne. SHAPIRO d'ailleurs, dès 1957 (201) signalait déjà, au cours du jeûne, la baisse des capacités d'estérification des Acides Gras libres dans le tissu adipeux.

D'autres preuves expérimentales en faveur de ce mécanisme d'assimilation des Triglycérides en deux temps furent données (202), (199). Des émulsion de Triglycérides doublement marqués (glycérol ^{14}C , trioléate ^3H), sont utilisés : les résultats révèlent que les Triglycérides sont captés sans hydrolyse préalable. En effet seules des quantités négligeables de glycérol libre, apparaissent durant la première heure d'incubation, quant au rapport $^{14}\text{C}/^3\text{H}$ dans les Triglycérides tissulaires, il est d'autant plus proche de sa valeur initiale, que le temps d'incubation est plus court. Ce n'est seulement qu'au bout de deux heures d'incubation que des quantités appréciables de glycérol apparaissent dans le milieu et le tissu, tandis que le rapport $^{14}\text{C}/^3\text{H}$ s'effondre rapidement : cette chute du rapport reflète les remaniements profonds que subissent les Triglycérides sitôt après avoir été captés. La partie glycérol de la molécule radioactive est progressivement relâchée, et les Acides Gras libérés sont réestérifiés par du glycérol endogène. Il est probable que cette brusque incorporation d'Acides Gras exogènes dans les Triglycérides tissulaires fasse partie intégrante du processus de transfert par lequel, les Triglycérides sont déplacés de leur lieu de captation vers la vacuole graisseuse centrale de l'adipocyte.

Des études similaires, (23) (22) utilisant des lipoprotéines de densité très faible (VLDL) et biologiquement marquées par du Palmitate 1 - ^{14}C , ont révélé qu'une activité lipoprotéine lipasique était indispensable à la captation des Triglycérides par le tissu. Une bonne corrélation a été établie entre, d'une part, l'intensité de la captation des Triglycérides et d'autre part, l'activité lipasique exercée par le tissu sous l'effet de l'Héparine. Bien entendu, l'interprétation de ces expériences

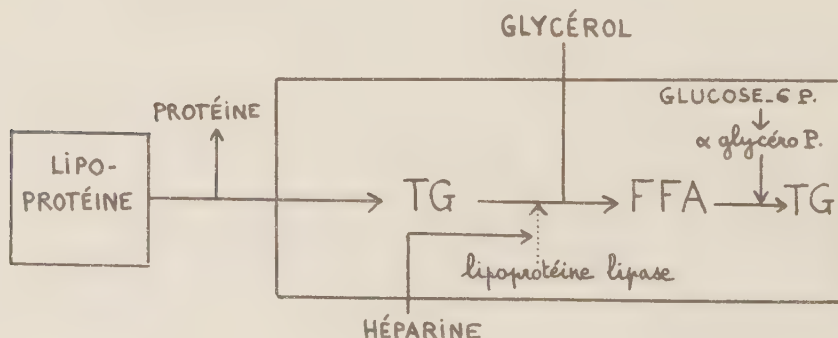
repose avant tout sur une correcte évaluation de la captation initiale par le tissu, de Triglycérides non hydrolysés ; cette captation est-elle le premier temps de l'assimilation comme l'ont postulé ROBBELL (182) et SHAPIRO (199) ou bien s'agit-il d'un simple processus d'absorption sans particulière signification biologique, comme l'ont pensé BEZMAN et Coll. (23) (22).

Il faut aussi noter, que les conditions sous lesquelles une proportionnalité entre l'activité lipoprotéine lipasique et la captation des Triglycérides a été constatée (augmentation au cours de la suralimentation, diminution au cours du jeûn), créent aussi des variations dans le même sens, pour la capacité d'estérification du tissu (201).

Cependant, ce parallélisme est imparfait (182), en présence de D F P, de pyrophosphate, de Triton, d'E D T A (144) : en effet, aux concentrations nécessaires et suffisantes à l'inhibition totale de la lipoprotéine lipase, ces substances n'inhibent que partiellement la captation des Triglycérides (122).

D'autre part, le fluorure de sodium, qui ne perturbe que légèrement l'activité lipasique (42), exerce une nette réduction de la captation. Bien plus, de puissants inhibiteurs de l'enzyme, tels que les Acides Biliaires, présentent la curieuse propriété d'augmenter l'assimilation des Triglycérides (58).

On peut donc conclure, de ces diverses expériences, que si la lipoprotéine lipase participe à la captation des Triglycérides, son niveau d'action se situe probablement à l'intérieur du tissu, et se trouve ainsi inaccessible aux divers inhibiteurs ajoutés au milieu d'incubation. L'enzyme pourrait alors intervenir sur les Triglycérides, dès lors que ceux-ci auraient franchi les diverses barrières cellulaires.



β) "IN VIVO"

Les résultats expérimentaux des études sur la captation des T G, in vivo, sont d'interprétation plus difficile, en raison de l'existence du shunt hépatique.

L'injection de chylomicrons marqués au Palmitate $14C$ chez des Rats à jeûn, a révélé que la majeure partie de l'activité clarifiante se situait au niveau du foie, celle-ci devenant prédominante au niveau du tissu adipeux après alimentation hydrocarbonée. Par ailleurs, la distribution tissulaire de la radioactivité est très différente lorsque l'on utilise l'injection d'Acides Gras libres radioactifs. Ce dernier point semblerait prouver que les chylomicrons ne subissent pas d'hydrolyse intravasculaire (31).

Cependant, aussi invraisemblable que paraisse une hydrolyse intravasculaire, la possibilité in vivo d'une lipolyse localisée au niveau des membranes capillaires ou cellulaires n'est pas à exclure, d'autant que le facteur clarifiant a été localisé, non pas dans le sang circulant, mais non loin de lui, dans l'endothélium capillaire (180). Une lipoprotéine lipase semblable en tous points, à celle qui apparaît dans le sang à la suite de l'injection d'Héparine a été isolée par KORN (121) dans le tissu adipeux. Cet enzyme est libéré dans le milieu, lorsque le tissu adipeux est incubé dans une solution renfermant de l'Héparine (100) (42) (179). De plus la quantité d'enzyme libérée est bien supérieure dans le cas du tissu prélevé chez l'animal nourri, que chez l'animal à jeûn. Ainsi les états nutritionnels favorables à la captation accrue des Triglycérides par le tissu adipeux (31) (88) coïncident avec les conditions nécessaires à une activité lipoprotéine-lipasique maximale. Toutefois, la libération accrue des Acides Gras libres par le tissu épидидymaire de Rat soumis au jeûn prolongé, est contraire à ce que l'on observe pour l'activité lipasique de ce même tissu ; ce qui a conduit à penser que la lipoprotéine lipase est bien impliquée dans l'assimilation des Triglycérides exogènes, et non dans la mobilisation des Triglycérides endogènes.

Des preuves formelles ont été établies (90) en faveur d'une hydrolyse préalable des Triglycérides exogènes, au niveau de l'endothélium capillaire, "In VIVO". En effet l'injection intraveineuse de chylomicrons radioactifs, chez le chien hépatectomisé, montre que la plupart des Triglycérides se retrouvent dans le tissu adipeux.

Comme d'autre part, l'activité spécifique des Acides Gras libres retrouvés dans le tissu est plus faible que celle des Acides Gras libres du plasma, il est suggéré que les Acides Gras tissulaires dérivent de leurs homologues plasmatiques, et se trouvent, par conséquent, dilués par les Acides Gras produits par la lipolyse des Triglycérides endogènes. Toutefois, cette hypothèse est fragile. En effet les Acides Gras libres tissulaires ne forment pas un "pool" unique, mais double, où se mélangent les Acides Gras fournis par l'hydrolyse des Triglycérides et les Acides Gras captés par le tissu, destinés à élaborer de nouvelles molécules de Triglycérides (52), (118).

D'autres expériences utilisent l'injection de chylomicrons marqués par le ^{14}C à la fois sur les radicaux Acyls et Glycéryls montrent que l'incorporation des Acides Gras est au moins égale à 3 fois celle du glycérol (26). Dès lors deux conclusions s'imposent :

a) le tissu adipeux assimile essentiellement, soit les Acides Gras libérés au cours de la lipolyse des chylomicrons, soit les Triglycérides préalablement métabolisés par le tissu hépatique, dans lequel la partie glycérol est plus rapidement échangée que la partie Acide Gras (212).

b) le tissu adipeux incorpore des quantités appréciables de glycérol.

Toutefois, il est peu probable que le glycérol libre soit directement transféré dans le tissu, puisque celui-ci ne participe que très faiblement à la biosynthèse des glycérides. (cf. lipogénèse). Pour cette dernière raison, il est plus vraisemblable d'envisager une captation de Triglycérides partiellement hydrolysés ou intacts.

Les expériences utilisent l'injection "In vivo", de Triglycérides, sont d'interprétation délicate, pour la compréhension des mécanismes de captation des graisses, en raison de l'échange de leurs acides Gras entre le foie et le "pool" des Triglycérides plasmatiques, échange qui est plus rapide que leur propre transfert dans le tissu adipeux (41).

Afin d'évaluer la part des Triglycérides captés sans hydrolyse préalable, RODBELL et SCOW (184) ont réalisé des expériences de perfusion de tissu adipeux, dans lesquelles le sang artériel utilisé est additionné de tripalmitine marquée au ^{14}C seulement sur la partie glycérol. Sept minutes après la fin de l'injection, le sang

est déjà débarrassé des Triglycérides radioactifs, démontrant ainsi la disparition totale de l'émulsion du lit vasculaire.

D'autre part, du glycérol libre apparaît dans le sang veineux pendant et après l'injection, alors qu'aucune trace n'en est décelée dans le sang artériel. Ceci témoigne que le glycérol ¹⁴C identifié résulte bien d'un processus hydrolytique siégeant à l'intérieur du tissu. Ces expériences montrent, en outre :

- l'existence d'une relation linéaire entre la concentration des Triglycérides plasmatiques et la quantité totale de Triglycérides captés par le tissu ;

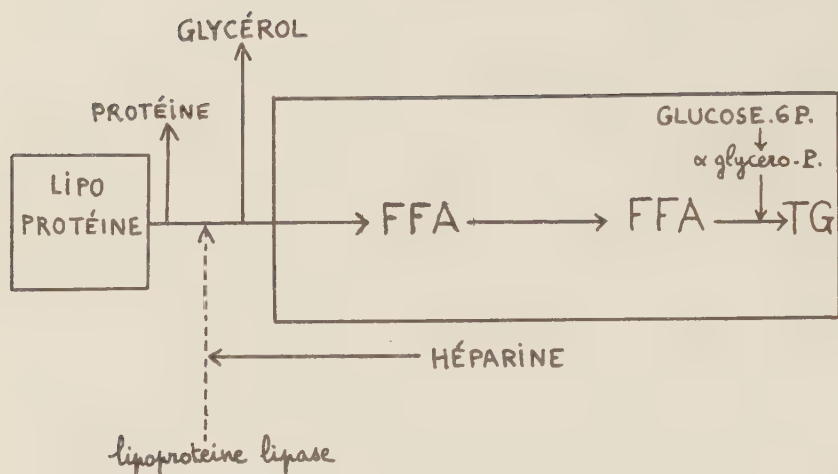
- que 75 % des Triglycérides assimilés par le tissu adipeux de Rat nourri sont préalablement hydrolysés ;

- enfin que chez l'animal à jeûn depuis 48 heures, cette valeur tombe à 50 %, tandis que la quantité globale de Triglycérides incorporés est quatre fois plus faible que chez l'animal nourri.

L'activité lipoprotéine lipasique présente-t-elle une régulation ? A maintes reprises déjà, il a été fait mention du rôle joué par l'état nutritionnel de l'animal. Les facteurs responsables de ces variations sont nombreux. Parmi eux, il faut citer le glucose, l'insuline, et l'héparine.

L'Héparine est contenue dans les Mastocytes qui se distribuent normalement, mais non exclusivement le long des parois capillaires. Il est donc possible, compte tenu de l'inactivité de l'enzyme en l'absence d'Héparine, qu'un mode de contrôle puisse résider dans le système responsable du transfert de l'Héparine depuis les Mastocytes, jusqu'au lieu de synthèse de l'enzyme.

Un autre mécanisme de contrôle pourrait s'exercer par les variations de la glycémie et de l'insulinémie : tous deux s'abaissent, en effet, au cours du jeûne. Bien qu'un tel processus ne puisse pas être considéré comme spécifique du tissu adipeux, il demeure cependant valable, surtout si l'on considère la particulière sensibilité que manifeste ce tissu à l'égard de l'Insuline (2 3 3), (2 3 4).



Toutes les expériences présentées convergent donc vers les conclusions suivantes :

- 1) les chylomicrons sont captés par le tissu adipeux.
- 2) la majeure partie des Triglycérides assimilés pénètrent après une hydrolyse préalable.
- 3) cette hydrolyse n'a pas lieu dans le sang (ceci confirme les résultats obtenus en microscopie électronique). (248).
- 4) les transformations subies par les chylomicrons dans la cellule endothéliale impliqueraient l'intervention de la lipoprotéine lipase ; celle-ci produirait un mélange comportant des Triglycérides, Diglycérides, Monoglycérides et des Acides Gras non estérifiés. Ces composés s'organiseraient alors en un complexe soluble, qui traverserait la membrane basale de l'endothélium vasculaire.
- 5) la régulation de la captation des Triglycérides est exercée par l'Adipocyte lui-même : sa capacité

de synthèse et de sécrétion de Lipoprotéine lipase a été démontrée. Les effets exercés par certains facteurs hormonaux et nutritionnels sur la captation des Triglycérides doivent être attribués aux propres effets qu'exercent ces agents sur la production de l'enzyme par l'Adipocyte.

Il est probable, que des renseignements précieux seront fournis par des études futures portant sur la nature et les fonctions de l'endothélium vasculaire du tissu adipeux pour en mieux saisir le mécanisme de captation des Triglycérides.

2 - Captation des Acides Gras Libres.

Parmi tous les lipides circulants, les Acides Gras non estérifiés (F F A) représentent la fraction pondérale la plus faible. Ceux-ci sont transportés dans le torrent sanguin, par l'Albumine sérique. De nombreuses études ont montré l'existence, au niveau du tissu adipeux, d'une captation de ces F F A circulants, suivie d'une rapide estérification en Triglycérides de la plupart d'entre eux : (221), (200), (201).

a) - Etude "In-Vitro".

Les mécanismes de l'assimilation des F F A par l'Adipocyte, et les facteurs impliqués ont été progressivement élucidés par l'emploi de méthodes d'incubation de fragments tissulaires dans des milieux enrichis d'Acides Gras radioactifs.

Le degré d'assimilation et d'estérification dépend d'abord de l'état nutritionnel de l'animal donneur. En effet, l'incorporation et l'estérification du Stéarate $1 - {}^{14}\text{C}$ en solution albumineuse à 5 %, sont faibles chez l'animal soumis au jeûne prolongé, (201) ; elles sont supérieures chez l'animal normalement alimenté, et fortes chez l'animal gavé. Chez un donneur, réalimenté après une période de jeûne, la captation s'est révélée maximale, toute la radioactivité intratissulaire étant liée à la fraction Triglycéride (201). Le jeûne a pour effet chez le Rat, d'une part d'abaisser la teneur en palmitate et palmitoléate, d'autre part d'augmenter la concentration du stéarate, de l'oléate et du linoléate, dans le tissu épидидymaire (102).

La concentration en Albumine du milieu d'incubation influe sur la captation des F F A. En effet, il a été constaté que l'incorporation de Palmitate $1 - {}^{14}\text{C}$, dont la concentration est maintenue constante dans le liquide d'incubation, est inversement proportionnelle à la concentration en Albumine du milieu (173).

De fortes concentrations de Glycérol n'affectent pas l'intensité de la captation des F F A (201) ; le degré d'incorporation est ramené à 40 % de sa valeur initiale sous atmosphère d'Azote (201) ; les Cyanures (M/500) abolissent totalement l'incorporation, le fluorure de Sodium (M/20) ne l'affecte pas, mais à concentration double et sous atmosphère d'Azote, celle-ci est nulle (218).

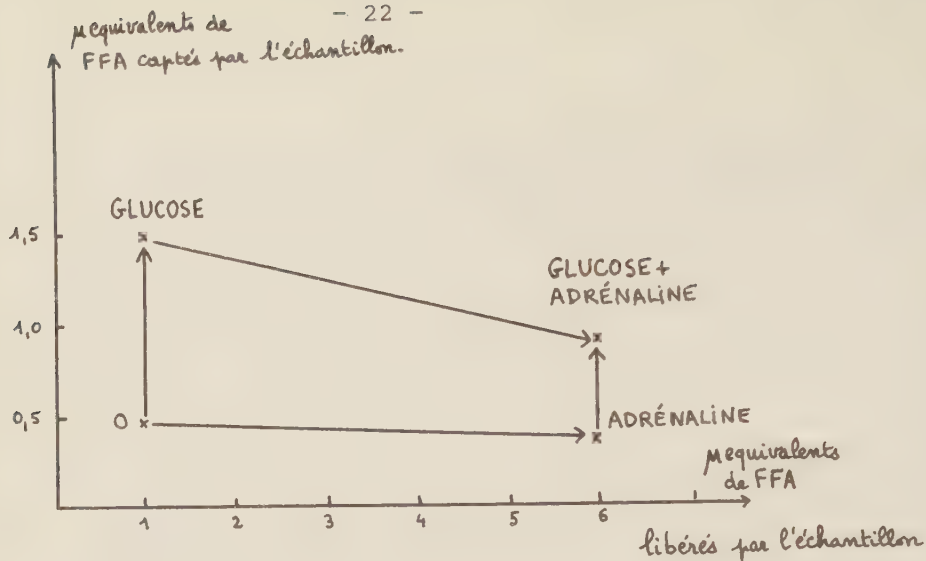
L'intensité de la captation est proportionnelle à la concentration des F F A du milieu (201). BALLY et Coll. (7) établissent également une relation linéaire entre l'oxydation du Palmitate 1 - ^{14}C en CO_2 , et sa concentration dans le milieu d'incubation.

L'estérification qui suit la captation des F F A par le tissu, nécessite de l' α glycérophosphate, et par conséquent une source convenable d'hydrate de carbone. C'est en parfait accord avec ce mécanisme, qu'il fut constaté que l'addition de glucose "In Vitro", élève considérablement l'assimilation du palmitate et aussi son estérification (7) (118) (167) (168) (172), mais diminue son oxydation en CO_2 (7). Cette opposition s'explique aisément si l'on considère que deux voies s'offrent au Palmitate dès que celui-ci est capté : soit l'estérification, soit l'oxydation : il pourrait y avoir compétition entre les deux mécanismes possibles, l'estérification l'emportant sur l'oxydation, en présence de glucose.

La captation est maximale 8 heures après le début de l'incubation avec du glucose à 1 ‰ (118). VAUGHAN et Coll. (240) montrent qu'avec 0,5 ‰ de glucose, la captation du palmitate est supérieure au double de celle mesurée sur le témoin sans glucose.

Enfin, si en plus du glucose, on ajoute de l'Insuline, l'incorporation s'élève encore, et la proportion de molécules de palmitate dégradée par β oxydation, s'effondre. (7).

D'autres études effectuées cette fois en présence de glucose et d'Adrénaline permettent d'accéder à la notion importante de compartiments métaboliques (52). En effet, de part la constante dualité entre la lipolyse des Triglycerides endogènes d'une part, et l'estérification des F F A exogènes d'autre part, il est intéressant pour un Acide Gras donné de chiffrer la fraction effectivement captée, en tenant compte de la fraction qui, pendant le même temps aura été libérée dans le tissu à partir des Triglycérides tissulaires. Pour ce faire, on peut artificiellement stimuler la lipolyse par addition d'Adrénaline et activer la captation par apport de glucose. DOLE a rapporté les résultats suivants, schématisés ci-après :



Cet auteur conclut que le pool des Acides Gras tissulaires est constitué par les produits de la lipolyse des Triglycérides endogènes. Les FFA du pool peuvent être libérés dans le milieu, ou peuvent subir une réestérification dans le tissu. Les FFA exogènes ne semblent pas approvisionner de manière directe le pool des Acides Gras tissulaires. (52)

D'autres preuves en faveur de cette thèse sont apportées par les expériences de KERPEL et Coll. (118). Elles sont basées sur la mesure de la cinétique de l'incorporation du Palmitate 1 - 14 C combiné à la sérum albumine, dans des coupes de tissu épидидymaire de Rat. Cette cinétique est d'ordre 1, et durant les six premières heures, la plupart de la radioactivité déplacée du milieu vers le tissu, se retrouve dans la fraction glycéride. Au delà, l'activité dans les esters n'augmente plus, et reste plus faible que celle des Acides Gras tissulaires ou ceux du milieu. La concentration en Acides Gras tissulaires, quant à elle, continue d'augmenter. Un équilibre isotopique a donc été atteint entre d'une part les acides gras du milieu, et d'autre part, le "compartiment actif" représenté par les esters tissulaires. Des preuves directes de l'existence d'un "pool actif" sont apportées par les mêmes auteurs.

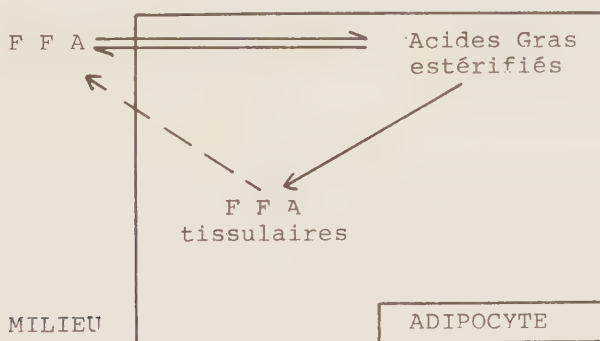
Les F F A tissulaires ne semblent pas participer activement à la captation et à l'estérification des F F A exogènes. En effet, sous l'action de l'Adrénaline, les Acides Gras libérés présentent une activité spécifique supérieure à celle des Acides Gras tissulaires, et dérivent par conséquent de la fraction active, c'est-à-dire, des Triglycérides tissulaires. D'où la double notion de compartiment :

- actif : représenté par les Triglycérides dont les Acides Gras sont échangeables avec ceux du milieu extérieur.

- passif : figuré par les F F A tissulaires, et n'intervenant pas dans les mécanismes d'échange avec l'extérieur, ni les processus d'estérification ; il peut en revanche décharger ses constituants dans le milieu environnant (2 3 4).

Pour STEIN et STEIN(2 1 3), le "compartiment actif" serait localisé au niveau des particules cytoplasmiques.

Ainsi le renouvellement rapide des F F A du tissu adipeux n'est le privilège que d'une faible partie de la masse lipidique de l'adipocyte.



d'après KERPFL et coll (1 1 8)

L'assimilation des F F A exogènes par le tissu adipeux semble donc procéder, comme pour les Triglycérides, en deux temps. Tout d'abord, les F F A du milieu sont captés par une formation tissulaire, dans laquelle s'opère

l'estérification, puis prend place la lente transformation en gouttelettes lipidiques.

Afin d'élucider dans le détail la première phase RESHEF et SHAPIRO (173) montrent qu'en absence d'A T P, l'incorporation du Palmitate est faible : de plus, 50 % des F F A assimilés se localisent dans les mitochondries, 30 % dans les microsomes. En utilisant les mitochondries seules, ces auteurs constatent qu'au bout de 5 minutes d'incubation, la captation est maximale. Une protéine fixée sur la paroi mitochondriale pourrait être responsable de la prise en charge des F F A dès que ceux-ci se seraient séparés de leur complexe avec l'Albumine.

Les mêmes auteurs (174) montrent que les mitochondries sont parmi tous les organites tissulaires, ceux qui fixent le plus solidement les F F A. Le traitement des mitochondries par le mélange Acétone/eau, 90/100, v/v, les rend désormais, incapables de fixer les F F A. L'extractum obtenu, contient une substance de nature lipidique, dont l'analyse chromatographique a été entreprise. Elle serait capable de dissocier les complexes F F A-sérum Albumine.

La pénétration des F F A dans l'adipocyte, met-elle en jeu un processus actif ou passif ? Pour trancher, ZIERLER (264) suppose que si le processus nécessite un système transporteur, celui-ci ne doit pas faire de discrimination entre deux F F A de structure voisine, tel que le Myristate (C = 14) et le Palmitate (C = 16).

Par contre, si le système met en jeu une membrane à perméabilité sélective vis-à-vis des F F A, une certaine compétition devrait apparaître. ZIERLER montre que lorsque Myristate et Palmitate sont mélangés en quantités égales, et quelque soit la concentration utilisée, l'assimilation du Palmitate est réduite par la présence du Myristate. Il y a donc compétition entre les deux molécules, et en fonction de l'hypothèse de départ, on peut avancer prudemment que la membrane du tissu adipeux est peu perméable, et ne fait vraisemblablement pas participer dans le mécanisme de captation des F F A, un système transporteur.

Toutes ces expériences "in vitro", s'accordent donc sur les deux points suivants :

- Avant d'être captés par l'Adipocyte, les F F A seraient détachés de l'Albumine, par un composé appartenant au tissu, et dont le mécanisme d'action serait de type compétitif ; les F F A pénétreraient ensuite dans l'adipocyte.

- Ils s'attacheraient aux mitochondries, dans lesquelles leur estérification aurait lieu, les transformant en Triglycérides.

Le mécanisme tel qu'il est proposé est assez semblable à celui suggéré pour le tissu hépatique et semblerait généralisable à la plupart des tissus.

b) Etude "In Vivo".

L'assimilation des F F A par le tissu adipeux "In Vivo", est minimale chez les animaux soumis au jeûn (31). La captation débute seulement à partir de la quatrième heure suivant l'injection de Radiopalmitate. Inversement, chez les Rats dont la nourriture est à base d'hydrate de carbone, 13 % de la dose injectée est déjà retrouvée, au bout de 20 minutes dans le tissu adipeux. Les glucides, source d' α glycérophosphate, semblent donc, ici aussi, agir sur l'équilibre entre les entrées et sorties des F F A (127).

D'autre part, l'activité spécifique des Acides Gras du tissu adipeux de Rat, est , 24 heures après l'injection de Radio-palmitate, encore très nettement inférieure à celle des lipides plasmatiques et hépatiques. Il faut attendre environ deux semaines pour obtenir des valeurs similaires dans ces différents territoires (160) .

Ainsi les expériences "In Vivo" comme "In Vitro", s'accordent à démontrer que les F F A marqués, pénètrent d'abord dans un compartiment, dont le métabolisme est intense, pour ensuite s'intégrer lentement, dans le pool des graisses de réserve.

III / SYNTHÈSE ENDOGENE DES TRIGLYCERIDES_ (LIPOGENESE)

C'est avec la lipolyse, la fonction la plus importante remplie par le tissu adipeux : non seulement elle contribue au stockage des Acides Gras synthétisés "De Novo", mais encore, à la mise en réserve des Acides Gras apportés au tissu par le sang sous forme libre ou estérifiée.

Dès leur captation par le tissu, les Acides Gras libres sont rapidement estérifiés et transformés en glycérides. Toutes les étapes de cette synthèse ont été élucidées et sont semblables à celles qui existent dans d'autres tissus, notamment le foie ; elles ont été décrites par WEISS et KENNEDY (251), (252).

Les expériences, permettant leur découverte, reposent sur la mesure de la radioactivité incorporée dans des homogénats ou dans des fragments tissulaires, incubés en présence d'acides gras ou d' α glycérophosphate marqués, et sur l'identification des produits radioactifs formés au cours du temps.

A) LES VOIES.

Dès 1960, STEINBERG et coll. (218) montrent que l'incorporation du Palmitate 1 - ^{14}C dans les Triglycérides est optimale lorsque le milieu d'incubation renferme de l'ATP, du Co A SH, de l' α glycérophosphate, du Mg^{++} des Fluorures et de la Cystéine. Le glycérol ne peut remplacer l' α glycérophosphate. La plupart de la radioactivité se situe au niveau des Triglycérides (50 à 80 %) le reste dans les Diglycérides. La radioactivité spécifique des Diglycérides est 100 fois supérieure à celle des Triglycérides. Par ailleurs, moins de 5 % de la radioactivité se trouve dans les phospholipides (y compris l'Acide phosphatidique).

La même année, ROSE et SHAPIRO (186) mettent en évidence, quatre systèmes enzymatiques différents :

1) une Thiokinase : responsable de l'activation des molécules d'Acides Gras à longue chaîne en Acyl CoA, présente dans les mitochondries, nécessitant du CoA SH, de l'ATP et du Mg^{++} .

- Ils s'attacheraient aux mitochondries, dans lesquelles leur estérification aurait lieu, les transformant en Triglycérides.

Le mécanisme tel qu'il est proposé est assez semblable à celui suggéré pour le tissu hépatique et semblerait généralisable à la plupart des tissus.

b) Etude "In Vivo".

L'assimilation des F F A par le tissu adipeux "In Vivo", est minimale chez les animaux soumis au jeûn (31). La captation débute seulement à partir de la quatrième heure suivant l'injection de Radiopalmitate. Inversement, chez les Rats dont la nourriture est à base d'hydrate de carbone, 13 % de la dose injectée est déjà retrouvée, au bout de 20 minutes dans le tissu adipeux. Les glucides, source d' α glycérophosphate, semblent donc, ici aussi, agir sur l'équilibre entre les entrées et sorties des F F A (127).

D'autre part, l'activité spécifique des Acides Gras du tissu adipeux de Rat, est , 24 heures après l'injection de Radio-palmitate, encore très nettement inférieure à celle des lipides plasmatiques et hépatiques. Il faut attendre environ deux semaines pour obtenir des valeurs similaires dans ces différents territoires (160) .

Ainsi les expériences "In Vivo" comme "In Vitro", s'accordent à démontrer que les F F A marqués, pénètrent d'abord dans un compartiment, dont le métabolisme est intense, pour ensuite s'intégrer lentement, dans le pool des graisses de réserve.

III / SYNTHÈSE ENDOGÈNE DES TRIGLYCÉRIDES (LIPOGÈNÈSE)

C'est avec la lipolyse, la fonction la plus importante remplie par le tissu adipeux : non seulement elle contribue au stockage des Acides Gras synthétisés "De Novo", mais encore, à la mise en réserve des Acides Gras apportés au tissu par le sang sous forme libre ou estérifiée.

Dès leur captation par le tissu, les Acides Gras libres sont rapidement estérifiés et transformés en glycérides. Toutes les étapes de cette synthèse ont été élucidées et sont semblables à celles qui existent dans d'autres tissus, notamment le foie ; elles ont été décrites par WEISS et KENNEDY (251), (252).

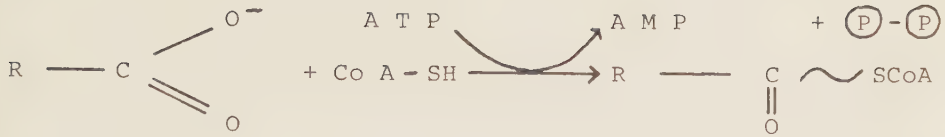
Les expériences, permettant leur découverte, reposent sur la mesure de la radioactivité incorporée dans des homogénats ou dans des fragments tissulaires, incubés en présence d'acides gras ou d' α glycérophosphate marqués, et sur l'identification des produits radioactifs formés au cours du temps.

A) LES VOIES.

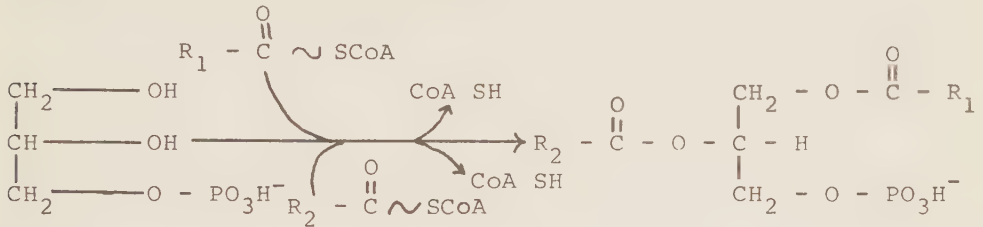
Dès 1960, STEINBERG et coll. (218) montrent que l'incorporation du Palmitate $1 - ^{14}\text{C}$ dans les Triglycérides est optimale lorsque le milieu d'incubation renferme de l'ATP, du Co A SH, de l' α glycérophosphate, du Mg^{++} des Fluorures et de la Cystéine. Le glycérol ne peut remplacer l' α glycérophosphate. La plupart de la radioactivité se situe au niveau des Triglycérides (50 à 80 %) le reste dans les Diglycérides. La radioactivité spécifique des Diglycérides est 100 fois supérieure à celle des Triglycérides. Par ailleurs, moins de 5 % de la radioactivité se trouve dans les phospholipides (y compris l'Acide phosphatidique).

La même année, ROSE et SHAPIRO (186) mettent en évidence, quatre systèmes enzymatiques différents :

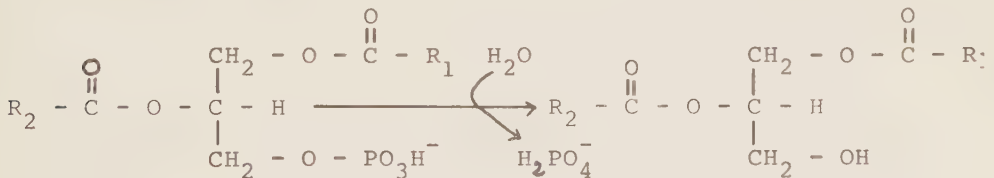
1) une Thiokinase : responsable de l'activation des molécules d'Acides Gras à longue chaîne en Acyl CoA, présente dans les mitochondries, nécessitant du CoA SH, de l'ATP et du Mg^{++} .



2) une Acylphorase : catalysant le transfert de deux molécules d'Acyl CoA sur une molécule d' α glycérophosphate, engendrant la synthèse d'Acide Phosphatidique, et localisée dans les mitochondries.

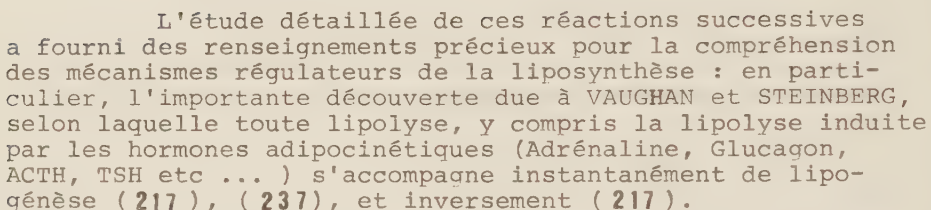


3) une Phosphatidate phosphatase, présente dans les microsomes et réalisant l'hydrolyse de l'Acide Phosphatidique qui conduit à l'élaboration d'un Diglycéride.



4) enfin une Lipase activée par les ions Ca^{++} responsable de l'hydrolyse des Triglycérides.

La découverte de ces enzymes ajoutée aux résultats fournis par d'autres expériences (185), (217) permet d'affirmer que la lipogénèse passe nécessairement par la biosynthèse des Diglycérides. La dernière étape de synthèse des Triglycérides, est catalysée par une Acylphorase qui estérifie l' α, β diglycéride :



L'incorporation des Acides Gras dans le squelette de la molécule d'acide phosphatidique est fonction de la structure du radical Acyl. Les Acides Gras les plus intensément incorporés sont l'acide Palmitique et l'acide Oléique (101). Des études semblables "in Vivo" montrent une incorporation décroissante du Palmitate à l'Oléate, au Linoléate, enfin au Stéarate (213).

$$\begin{array}{lcl} \text{F}_6\text{P} + \text{D glycéraldéhyde} & \rightleftharpoons & 3 \text{ P glycéraldéhyde} + \text{F} \\ 3 \text{ P glycéraldéhyde} & \xrightarrow{\text{NADH}_2} & \alpha \text{ glycérophosphate} \\ & & \text{NAD} \end{array}$$
$$\text{F}_6\text{P} + \text{D glycéraldéhyde} + \text{NADH}_2 \longrightarrow \text{F} + \alpha\text{glycérophosphate} + \text{NAD}$$

Il a déjà été mentionné l'impossibilité de remplacer efficacement l' α glycérophosphate par le glycérol (218), la présence de glycérokinase dans l'adipocyte, ayant été d'abord discutée puis reconnue (143), (2).

Dans les microsomes, MARGOLIS et VAUGHAN isolent une enzyme responsable de l'hydrolyse de Pyrophosphate à pH 5,2. Pour ces auteurs, il semble qu'une réaction de transphosphorylation puisse se faire entre les molécules de pyrophosphate et le glycérol, conduisant ainsi à la biosynthèse d' α glycérophosphate. Par ailleurs, à l'appui de cette thèse, il faut citer les travaux de H O et MENG (98) qui, utilisant la technique du tissu adipeux perfusé, ont montré que l'incubation en présence de Glycérol 14 C, entraîne en 20 minutes l'apparition dans le tissu de lipides de réserve marqués, dont 90 % se révèlent être des glycérides (surtout des Triglycérides). L'existence d'un enzyme activateur direct du glycérol est donc possible, mais cette voie de biosynthèse d' α glycérophosphate demeure en tout état de cause mineure.

La principale source d' α glycérophosphate reste donc la Glycolyse.

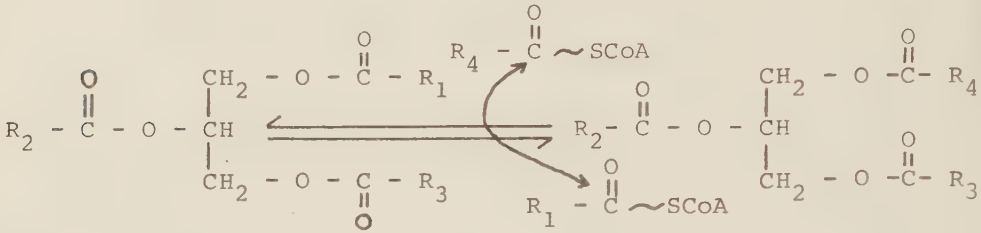
L'étude cinétique de la biosynthèse de l'Acide Phosphatidique a montré que 3 minutes après le début de l'incubation en présence d' α glycérophosphate radio-actif, 50 % déjà de l'Acide Phosphatidique tissulaire est marqué (217). D'ailleurs, parmi tous les Phospholipides, seul l'acide Phosphatidique est significativement marqué.

La dernière réaction conduisant à la synthèse de Triglycérides a été étudiée particulièrement par GOLDMAN et VAGELOS (73) dans les microsomes du tissu adipeux chez le Poulet, et par STEINBERG et coll. dans des homogénats d'épididyme de Rat (217). L'intensité de cette réaction est fonction du caractère désaturé du diglycéride. La position α ou β du radical acyl désaturé n'influe pas sur l'affinité de l'enzyme pour son substrat. (cette constatation est paradoxale, puisque la plupart des Triglycérides naturels sont β désaturés. On peut donc déjà envisager, de la part des enzymes lipolytiques, une affinité sélective vis-à-vis des Triglycérides α désaturés, laissant de préférence inattaqués les molécules β désaturés). Par contre, l'intensité de l'incorporation du dernier radical acyl dans la molécule de Triglycéride dépend plus étroitement de la nature de celui-ci. Il semble, en effet, que la capacité d'estérification décroisse au fur et à mesure que les molécules d'Acides Gras sont plus longues :

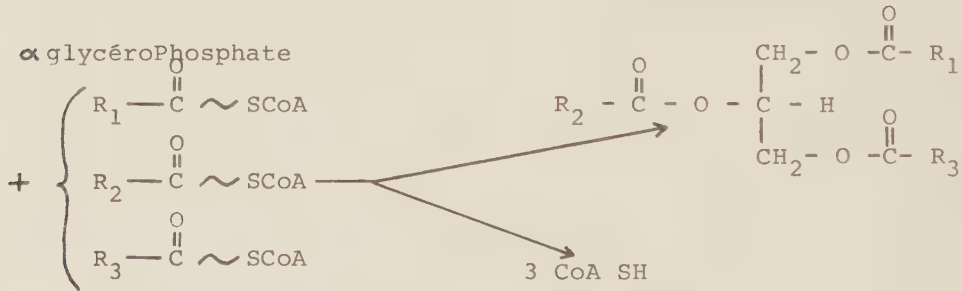
Myristate > Palmitate > Stéarate.

Les réactions que nous venons de décrire ne sont peut être pas les seules responsables de la biosynthèse des Triglycérides. SHAPIRO et Coll. ont signalé l'existence, dans l'adipocyte, d'autres systèmes (202) :

- un enzyme permettant sur une molécule de Triglycéride l'échange de radicaux acyls :

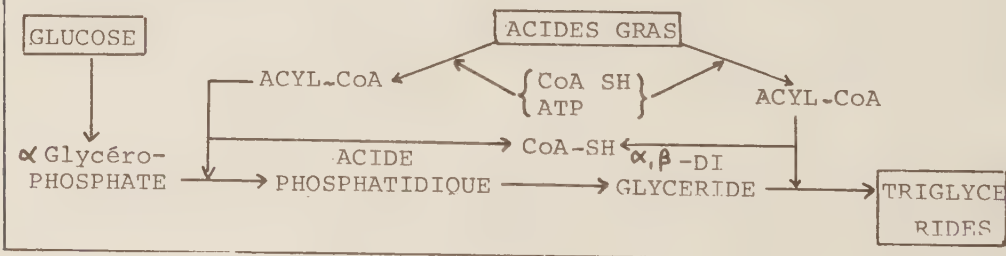


- la triple acylation directe de l' α glycérophosphate, sans passage par l'intermédiaire de l'acide Phosphatidique :



Bien que la présence de ces deux derniers systèmes n'ait pas été infirmée depuis, leur participation dans la biosynthèse des glycérides doit de toute façon rester mineure.

RESUME DE LA BIOSYNTHESE DES TRIGLYCERIDES



B) LA REGULATION.

Comme nous l'avons vu, la mise en réserve par le tissu adipeux, des Acides Gras sous forme de Triglycérides, est conditionnée par un apport suffisant en acides Gras, et par un approvisionnement correct en α glycérophosphate. C'est essentiellement à ces deux niveaux que vont se situer les principaux mécanismes régulateurs de la lipogénèse.

1) Capacité endogène d'estérification.

Dès 1960, BALLY et Coll. (7) montrent que la vitesse d'incorporation dans les lipides tissulaire et l'oxydation en CO_2 , du Palmitate l ^{14}C sont directement proportionnelles à la concentration de l'Acide Gras dans le milieu d'incubation. Les effets exercés par de fortes concentrations en Acides Gras s'étendent au métabolisme glucidique : dans ces conditions CAHILL et LEBOEUF ont en effet constaté une orientation préférentielle du catabolisme des sucres vers la voie d'EMBDEN - MEYERHOF ce qui a pour conséquence, un accroissement de la teneur tissulaire en α glycérophosphate, et ainsi une augmentation des capacités de synthèse des Triglycérides (39). Les mêmes auteurs notent aussi une plus grande incorporation de Glucose dans l'adipocyte. (129).

L'intensité d'estérification des Acides Gras captés est aussi fonction de l'état nutritionnel : elle est moins marquée chez l'animal à jeûn que chez l'animal gavé où la plupart des Acides Gras libres présents dans le milieu sont rapidement retrouvés dans les Triglycérides de réserve (201).

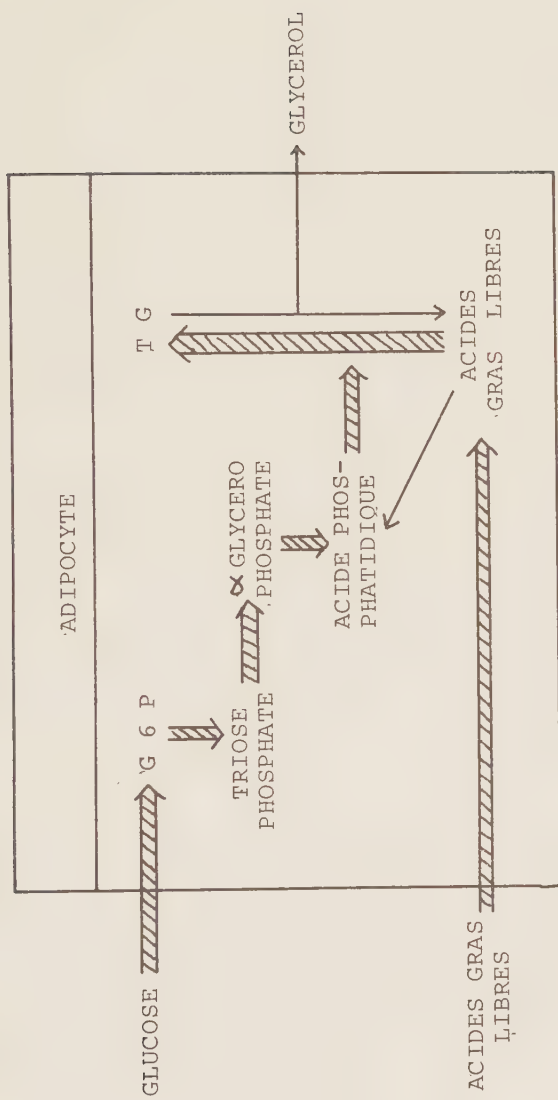
2) Régulation par les Glucides.

Le fait que le tissu adipeux ne manifeste pas une grande activité glycérokinasique, revêt une importance particulière, puisque cela exclut la réutilisation possible du glycérol libéré au cours de la lipolyse. En conséquence, la lipogénèse dépend d'un apport adéquat en α glycérophosphate. Celui-ci ne provient que du catabolisme glucidique. Bien plus, comme la synthèse et la dégradation des Triglycérides sont des processus continus et en équilibre dynamique constant, le simple maintien d'un stock suffisant de Triglycérides apparaît requérir un apport continu d' α glycérophosphate et donc de glucose.

Les effets qu'exerce le Glucose sur la captation et l'estérification des Acides Gras, ont été l'objet de très nombreux travaux : (172), (171), (167), (168), (7), (235), (77), (237), (118), (263). Tous s'accordent sur le fait que l'adjonction de Glucose dans le milieu d'incubation, entraîne, au niveau du tissu, des modifications dans le métabolisme des Acides Gras :

- une augmentation de leur incorporation ;
- une estérification accrue ;
- une baisse de leur oxydation ;
- enfin une diminution de leur libération.

Pour une concentration de Glucose de 1 mg/ml, le maximum d'incorporation se situe vers la huitième heure d'incubation (118). Avec une concentration moitié moindre, l'estérification des Acides Gras libres est doublée, (240). Avec du tissu mésentérique de Rat, REICH et FELT (172), montrent que les teneurs en Acides Gras libres du tissu et du milieu, diminuent en présence de Glucose. La baisse de la quantité d'Acides Gras libérés ne s'accompagne pas d'une modification de la production de glycérol (235). Aussi, GORIN et SHAFRIR (77) suggèrent que l'apport de Glucose augmente les capacités de synthèse d' α glycérophosphate et par conséquent de Triglycérides. Ces modifications du métabolisme sont, par ailleurs, inhibées par l'anaérobiose, le Dinitrophénol et la Quinine (171). D'autres précurseurs d' α glycérophosphate présentent les mêmes effets, c'est le cas en particulier du Fructose, Galactose, Mannose, Pyruvate (237).



Mécanisme d'action du Glucose

3) Régulation par l'Insuline.

La biosynthèse des Triglycérides est sous la dépendance de l'Insuline. En effet, la transformation du Glucose extracellulaire en Glucose - 6 - Phosphate intracellulaire règle l'apport glucosé à la cellule adipeuse et du même coup, la lipogénèse. Or c'est précisément à ce niveau qu'agit l'Insuline. (38), (7), (263), (139), (116), (234), (33), (6). L'étude précise du mécanisme d'action de l'Insuline révèle quatre ordres de faits :

- une nette diminution de la lipolyse (57), (233) ;
- une chute simultanée de la teneur tissulaire en Acides Gras libres (168), (33) ;
- une augmentation de la captation et de l'estérification des Acides Gras d'origine exogène ; (7), (139) ;
- une stimulation de la synthèse du radical glycéryl des Triglycérides, à partir du squelette carboné du Glucose.

Les effets exercés par l'Insuline sur l'estérification des Acides Gras libres sont quantitativement moins importants que ceux exercés par l'hormone sur les conversions du Glucose ^{14}C en $^{14}\text{CO}_2$, en Acides Gras ^{14}C ou en Glycogène ^{14}C (125).

L'inhibition de la lipolyse exercée par l'Insuline est attestée par la diminution de glycérol libéré, en particulier lorsque le milieu d'incubation est dépourvu de Glucose. Bien plus, un tissu préalablement traité par l'Adrénaline puis incubé en absence de Glucose, libère des quantités d'Acides Gras et de Glycérol significativement plus basses en présence d'Insuline, (116).

L'étude détaillée des modifications entraînées par l'Insuline sur le métabolisme du Glucose - 6 - Phosphate dans le tissu adipeux, de Rat a été entreprise par LANDAU (125). Selon cet auteur, le catabolisme du glucose serait deux à trois fois plus intense en présence de l'hormone. Cette accélération de la glycolyse et de la voie des pentoses phosphates a pour conséquence une production accrue de CO_2 , de coenzymes réduits, en particulier de NADPH_2 nécessaire à la lipogénèse, d'acides gras à partir d'acétyl CoA, enfin de Triglycérides par l'accroissement de la production d' α glycéro-phosphate. Tous ces éléments expliquent le déplacement de l'équilibre dynamique existant entre les Triglycérides et les Acides Gras libres tissulaires, au profit de l'estérification. La mobilisation des Acides Gras se trouve ainsi inhibée.

4) Régulation par les Hormones Lipolytiques.

Le traitement du tissu adipeux "In Vitro" par l'Adrénaline, est suivi d'une augmentation de la concentration tissulaire d'Acides Gras libres, d'une accélération de la libération d'Acides Gras et de Glycérol dans le milieu, (176), (140), (130). Un enzyme responsable de la lipolyse, la Triglycéride lipase, a été identifié dans ce tissu. Le mode d'action de l'Adrénaline s'exerce à ce niveau, par une activation de l'enzyme, (176). En outre, cet effet primaire, purement lipolytique, est suivi d'une accélération des processus d'estérification, donc lipogénétiques, (237), (77). En effet, CAHILL, (39) constate, en utilisant du Glucose ^{14}C , que la biosynthèse du Glycérol, constitutif des Triglycérides, est décuplée, que la captation du Glucose et la libération de Glycérol par le tissu sont respectivement doublée et quadruplée en présence de catécholamine, par rapport à celles d'un tissu témoin (140), (77).

Ces résultats sont cependant erronés : en effet, établis sur la seule mesure de l'activité spécifique du Glucose ^{14}C présent dans le milieu, ces calculs ne tiennent pas compte des effets exercés par les catécholamines sur le métabolisme glucidique intratissulaire.

A l'aide de Glucose radio-actif, marqué par le ^{14}C soit en 1 soit en 6, il est aisé d'étudier les perturbations engendrées par l'ensemble des hormones lipolytiques sur le métabolisme cellulaire. On constate, en effet, l'augmentation de substrats tels que le Lactate, essentiellement marqué par le C_6 , l'accroissement de la consommation en oxygène (39), (37), (140) ; la majeure partie du CO_2 formé provient du C_6 du Glucose.

L'étude analytique des graisses montre une diminution de la synthèse des Acides Gras, avec participation égale du C_1 et du C_6 , des Triglycérides dont le Glycérol est surtout marqué par le C_1 . En outre, dans ces conditions, la lipolyse induite par voie hormonale, libère du glycérol et des Acides Gras libres non marqués, indiquant que ceux-ci n'ont pas été synthétisés à partir du Glucose, (140). Tous ces faits attestent que l'administration d'hormone lipolytique (catécholamines, ACTH, TSH etc...) a pour conséquence une utilisation accrue du Glucose par la glycolyse, au détriment de la voie des Pentoses phosphates, et donc un métabolisme assymétrique au niveau des Trioses phosphates (39), (140).

En fait, tous les effets observés sont superposables à ceux constatés lors d'une incubation en milieu riche en Acides Gras libres. Ce qui a permis à CAHILL (37) de conclure que l'action exercée en particulier par l'Adrénaline, sur le métabolisme glucidique du tissu adipeux, est la conséquence de l'effet primaire : la stimulation de la lipolyse, c'est-à-dire l'augmentation de la libération d'Acides Gras.

Donc, l'accélération de la synthèse des Triglycérides par les hormones lipolytiques, est en partie et sans nul doute, le résultat de l'augmentation de la concentration en Acides Gras libres au niveau du site d'estérification. Cependant la concentration en α glycérophosphate joue également un rôle primordial dans le contrôle de la lipolyse, donc de la lipogénèse. BUCKLE et BECK (32) ont démontré l'effet antilipolytique du Glucose, même en présence de catécholamines. L'addition d'Insuline dans un milieu enrichi en Glucose et Adrénaline, est suivie d'une potentialisation de l'effet antilipolytique, par stimulation de l'estérification des Acides Gras. Celle-ci est attestée par une baisse du pool des Acides Gras tissulaires (116), une diminution des quantités d'Acides Gras libérés, une élévation de la synthèse du glycérol des Triglycérides à partir du Glucose (39), et une augmentation de la consommation d'oxygène (81).

L'étude chronologique des différentes phases de la lipolyse induite "In Vitro" par les catécholamines a été entreprise par SHAFRIR et KERPEL (197). Successivement apparaissent, une courte élévation de l'estérification puis une lipolyse accrue, enfin une nouvelle estérification secondaire à l'orientation préférentielle du Glucose vers son oxydation, au détriment de la glyco-génogénèse et de la synthèse des Acides Gras.

Donc pour résumer les mécanismes de régulation des processus lipogénétiques, par les hormones lipolytiques, il apparaît que celles-ci agissent à deux niveaux différents :

1) en stimulant la lipolyse, laquelle par retour réinitie l'estérification ;

2) en modifiant profondément le métabolisme glucidique, par l'activation des Phosphorylases, donc une glycogénolyse accrue et par conséquent une augmentation de la capacité de synthèse d' α glycérophosphate (64).

5) Régulation par les Hormones Corticosurréaliennes.

L'influence des hormones corticosurréaliennes sur les métabolismes glucidiques et lipidiques est connue depuis les travaux de HOUSSAY (106) et LONG et LUKENS (136) qui démontrent le rôle de l'ante-hypophyse et des surrénales dans la cétose et l'accumulation hépatique de lipides, lors du diabète sucré, ainsi que leur contribution à l'apparition d'une hyperglycémie. Etant donné le rôle central joué par le tissu adipeux sur le métabolisme des lipides et des hydrates de carbone, il devenait, dès lors, naturel de s'intéresser aux effets exercés éventuellement par les Glucocorticoïdes sur le métabolisme de ce tissu.

MUNCK (157), (156) montre que le Cortisol et la Corticostérone ajoutés "In Vitro" diminuent significativement l'incorporation du Glucose et augmente la libération des Acides Gras libres par le tissu adipeux, lorsque ces hormones sont à des concentrations voisines des taux physiologiques. Ces effets sont également observés avec la Dexaméthasone, mais avec une intensité moindre (59). De fortes concentrations de Glucose, dans le milieu d'incubation, permettent d'inverser cette double action (59).

LEBOEUF et Coll (131) ont étudié plus en détail l'effet du Cortisol sur le métabolisme du Glucose incorporé dans le tissu. Le Glucose est uniformément marqué, et diverses mesures sont effectuées, en particulier la production de CO_2 , la synthèse du glycérol constitutif des glycérides, la synthèse du glycogène et celle des Acides Gras. On constate, en présence de Cortisol et après de longues incubations, que le métabolisme du glucose est globalement diminué. (diminution de la production de CO_2 , de glycogène, d' α -glycérophosphate, de lactate). Parallèlement, il est aussi possible d'observer une inhibition importante de la lipogénèse, avec de très faibles concentrations de Cortisol (0,5 à 5 $\mu\text{g/ml}$). Dans ces conditions, la synthèse lipidique est cinq fois plus faible que chez le témoin (114). Par contre, le Tétrahydrocortisol, produit de dégradation du Cortisol, n'exerce aucun effet. Certaines substances synthétiques comme la Triamcinolone et la Prednisone, dont l'action "In Vivo" est plus marquée que celle du Cortisol, ont "In Vitro", une action inhibitrice sur la lipogénèse deux fois plus grande que le Cortisol (114).

Plusieurs facteurs sont susceptibles de modifier "In Vitro" l'action des stéroïdes sur le tissu adipeux. Le plus important est sans doute l'Insuline, en présence

de laquelle, l'action inhibitrice du Cortisol, même à forte concentration est totalement supprimée. (131). Un autre facteur important paraît être la concentration en Glucose du milieu d'incubation. Si celle-ci est élevée, il y a suppression de l'action inhibitrice du Cortisol, probablement par stimulation de l'ensemble de l'activité métabolique du tissu adipeux, comme c'est le cas en présence d'Insuline. (112).

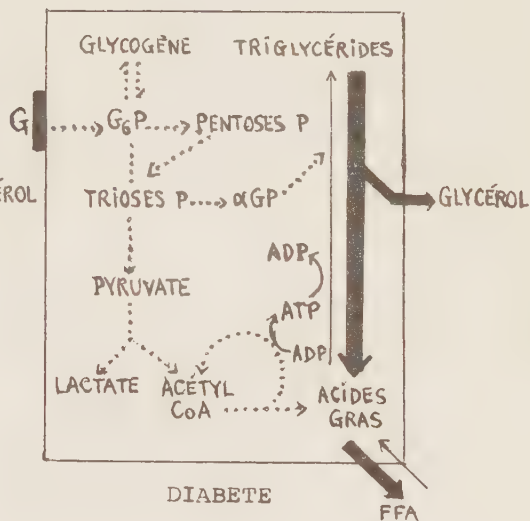
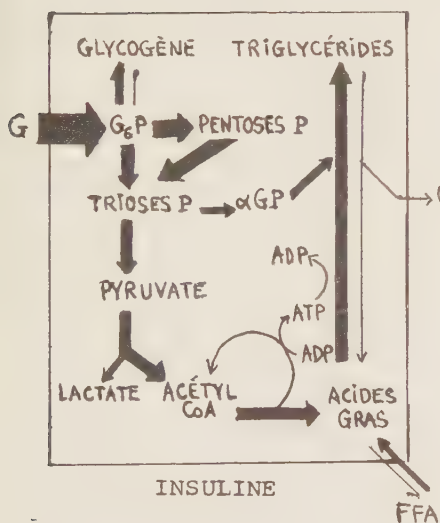
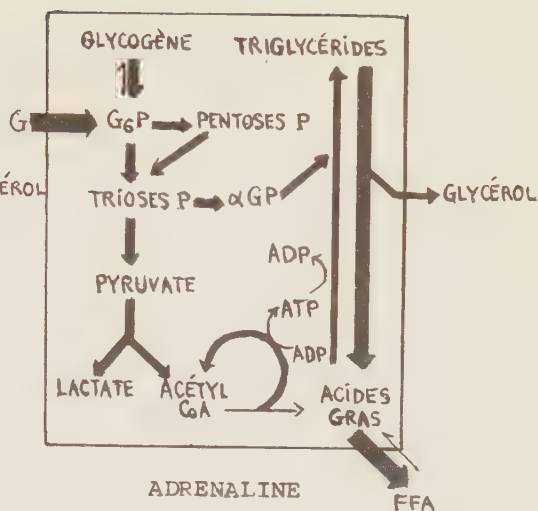
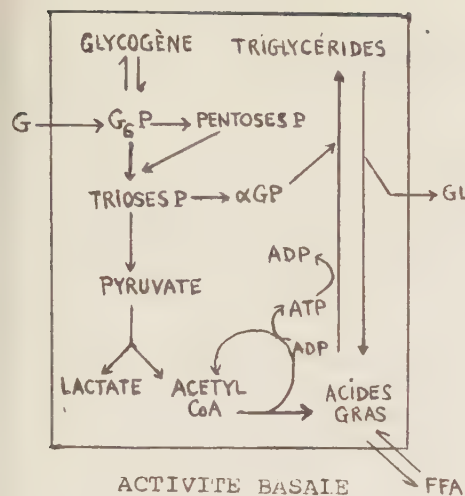
D'autres expériences réalisées "In Vivo" sont en accord avec celles faites "In Vitro", pour démontrer l'influence inhibitrice des glucostéroïdes sur le métabolisme du glucose et sur la lipogénèse par le tissu adipeux, (86), (156).

En conclusion, trois possibilités d'action peuvent être évoquées pour les Glucocorticoïdes :

- une action primaire qui porterait sur l'incorporation du Glucose par la cellule adipeuse, soit au niveau de son transport à travers la membrane, soit au niveau de sa phosphorylation en Glucose - 6 - Phosphate. La conséquence en serait une baisse globale du métabolisme glucidique, une diminution de la synthèse des Acides Gras, et une formation réduite de glycérides (197).

- une action primaire au niveau de la lipolyse, l'accumulation d'Acides Gras libres intratissulaires, engendrée par les glucocorticoïdes, inhibant secondairement le métabolisme du glucose (197), (242).

- enfin, la stimulation d'un système ATP asique par les glucocorticoïdes (24), ce qui favoriserait un ralentissement du métabolisme glucidique, et la dépression de toutes les réactions ATP dépendantes en particulier la biosynthèse des Acides Gras et leur estérification.



IV/ L A L I P O L Y S E

INTRODUCTION

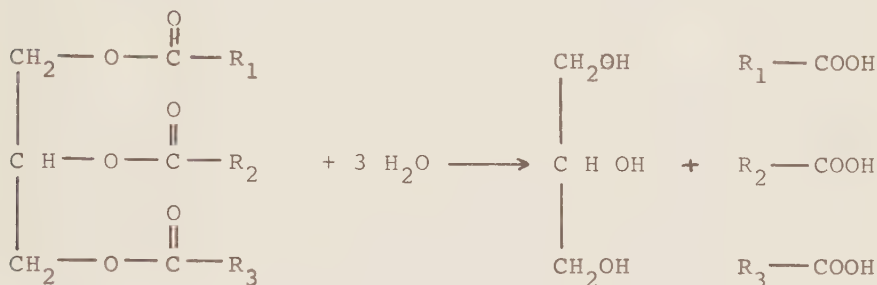
La démonstration par DOLE (51) et GORDON et CHERKES (75) (74) que le tissu adipeux libère ses lipides de réserve sous forme d'Acides Gras Libres et de glycérol, a suscité de la part des chercheurs un intérêt considérable pour les mécanismes responsables de la production de ces acides. Comme la plupart des graisses contenues dans l'Adipocyte sont des Triglycérides, l'attention fut immédiatement portée sur les possibilités d'hydrolyse des Triglycérides, dans l'espoir de découvrir une lipase sur laquelle agiraient différents facteurs activateurs ou inhibiteurs.

Depuis, il fut montré que le jeûne et certaines hormones ont la propriété d'élever la quantité d'Acides Gras libérés par le tissu adipeux, "In vivo" et "in vitro", et qu'au moins deux hormones, l'ACTH et l'Adrénaline agissent en stimulant l'activité lipasique de ce tissu.

I/ ETUDE BIOCHIMIQUE

A) Les MECANISMES

Jusqu'à présent le seul mécanisme de dégradation des Triglycérides qui ait été proposé pour le tissu adipeux est une rupture hydrolytique des liaisons esters, selon la réaction suivante :



En effet, aucun élément ne permet d'envisager l'existence d'un système plus complexe tel que la phosphorylyse, par exemple. Si bien que très vite l'intérêt s'est porté sur les enzymes responsables de cette simple hydrolyse, les Lipases.

1) L'activité lipoprotéine-lipasique.

Cet enzyme, impliqué dans la captation des lipides circulants, n'intervient pas dans les mécanismes de lipolyse. En effet, l'étude des spécificités de substrat, de pH optimum, de différents inhibiteurs, de réponse au jeûne etc... indique qu'un autre système enzymatique est impliqué dans la dégradation des Triglycérides (42) (100) (179). Les travaux de HOLLENBERG et Coll., (103) et de RIZACK (176) ont permis la découverte d'une lipase contenue dans l'adipocyte, et sensible à l'action de certaines hormones : la lipase hormono-sensible.

2) La lipase hormono-sensible :

Lorsque des fragments de tissu adipeux intacts sont incubés en présence d'Adrénaline, de Nor-Adrénaline, d'ACTH, de Glucagon ou de T S H, la production de glycérol et d'Acides Gras libres dans le milieu d'incubation est accentuée. De même, cette activité lipasique est for-

tement augmentée dans les homogénats de tissu adipeux préalablement traités par ces hormones (176) - (103) - (236) (238) - (239).

L'activité lipolytique hormono sensible présente un pH optimum de 7,5 elle est inhibée par les Fluorures (33), et l'acide ribonucléique (ARN) (53) ; elle est stimulée par la présence d'Albumine ; l'acide éthylène - diamino-tétraacétique (EDTA), les phosphates et la Protamine ne la modifient pas (176). Elle se localise au niveau des Microsomes (239) (78).

L'activité triglycéride lipasique varie en fonction de la nature du substrat (176) : par ordre décroissant on a : Tributyrine, Trilinoléine, Trilaurine, Tripalmitine, Tristéarine, Trioléine.

Le contrôle exercé par les Nucléotides sur l'activité de la lipase hormono-sensible, est, sans aucun doute, le caractère le plus intéressant de ce système enzymatique, puisqu'il explique en grande partie la régulation de la lipolyse - RIZACK (177) a montré le premier que l'adénosine 3' - 5' monophosphate (AMP cyclique) est capable de restaurer l'activité lipasique de fragments de tissu adipeux dans lesquels cette activité avait été déprimée par des incubations préalables. Les concentrations d'AMP cyclique nécessaires sont fortes, probablement du fait de la faible perméabilité cellulaire à l'égard de ce nucléotide (4). De plus, cette réactivation requiert de l'ATP, ou du CTP mais à concentration plus élevée. Par contre ni le GTP, ni l'UTP n'ont d'effets. La réactivation maximale est obtenue en présence de Mg^{++} et de Théophylline (ou de Caféine) (177). Ces expériences tendent donc à prouver que la lipase hormono-sensible existe sous deux formes moléculaires différentes : l'une inactive, l'autre activée, dérivant de la première, sous l'action de l'AMP cyclique.

La biosynthèse de l'AMP cyclique s'effectue à partir de l'ATP, par l'adényl cyclose, enzyme dont la présence a été reconnue dans le tissu adipeux, (226), au voisinage de la membrane cellulaire, (48). Cette synthèse est inhibée en milieu acide. L'adénosine 3' 5' mono phosphate est le médiateur chimique des hormones lipolytiques, en particulier des catécholamines (34), pour l'activation de la lipase hormonosensible, comme pour les phosphorylases (225) (166). En effet l'élévation de la concentration de ce nucléotide précède toujours une augmentation de la lipolyse, induite ou non par les catécholamines (35) - (36).

L'AMP cyclique est normalement dégradé en AMP par une phosphodiesterase, également présente dans l'adipocyte. La Caféine et la Théophylline, en inhibant la phosphodiesterase, potentialisent donc les effets de l'AMP cyclique (225) - (107). Certains dérivés puriques et pyrimidiques ont la propriété d'activer la lipase hormonosensible, probablement en s'opposant à l'activité phosphodiesterasique (178). De plus, les substances α et β adrénolytiques inhibent la lipolyse induite soit par l'AMP cyclique, soit par la théophylline, par un mécanisme d'inhibition non compétitive, (4).

Les concentrations d'AMP cyclique, d'ATP ou de CTP nécessaires à l'activation de la lipase, sont critiques : dès que celles-ci s'écartent de la valeur optimale, l'activation devient incomplète. Ceci pourrait expliquer le mécanisme d'action de certaines hormones comme l'insuline, dont l'administration pourrait se traduire par des variations de la concentration intratissulaire de ces nucléotides, et par conséquent, modifier voire inverser les effets primaires dues aux hormones lipolytiques : en effet l'Insuline s'oppose à la libération des Acides Gras et du glycérol par le tissu adipeux incubé en présence d'Adrénaline, mais en absence de glucose (116).

L'interprétation, en termes allostériques, du mode d'action de l'AMP cyclique est peut être prématurée. Le nucléotide s'attache - t - il à la lipase, ou bien active - t - il un système ATP dépendant responsable de la synthèse de l'enzyme ou de sa reconstitution à partir de ses sous - unités ? La réponse ne peut encore être donnée puisque l'enzyme n'a pu être purifié. Le rôle joué par l'ATP dans le mécanisme d'activation de la Lipase est certainement complexe. Le fait que la lipolyse induite par les catécholamines, requiert de l'énergie, a été largement démontré par l'emploi d'inhibiteurs des phosphorylations oxydatives, comme la Roténone, l'Oligomycine ou le 2 - 4 dinitrophénol. L'ATP pourrait donc intervenir à deux niveaux différents : comme précurseur de l'AMP cyclique, puis comme cofacteur nécessaire à la conversion de la forme inactive en forme active de la Lipase. Ce dernier mode d'intervention serait semblable à celui qui préside à l'activation des phosphorylases de la Glycogénolyse. (60).

3) Activité Mono et Diglycéride lipasique.

Les études de VAUGHAN et de ses collaborateurs (236), (238), (239), (14), (223) montrent que le tissu adipeux est doué d'activité lipasique vis-à-vis de glycérides de faible poids moléculaire, les Mono et les Di-glycérides. Cette activité est nettement différente de l'activité lipasique hormonosensible : le pH optimum de ce système se situe autour de 8, la production d'acides gras libres est cinq fois plus intense en présence d'Albumine qu'en son absence. L'hydrolyse des Monoglycérides est plus intense pour les dérivés β que pour les isomères α . L'activité lipolytique vis-à-vis des Monoglycérides et diglycérides est 10 fois supérieure à celle vis-à-vis des Triglycérides, pour le même homogénat. Enfin les quantités de Mono et de Diglycérides hydrolysées, ne sont pas modifiées par des traitements provoquant de grandes modifications de l'activité lipasique hormonosensible, par exemple l'addition d'Adrénaline.

Les Mono et Diglycérides lipases pourraient être responsables de la dégradation plus rapide et plus poussée des glycérides intermédiaires produits par l'hydrolyse des Triglycérides par la lipase hormonosensible.

B) REGULATION de la LIPOLYSE

Les contrôles métaboliques et hormonaux majeurs de la mobilisation des graisses par le tissu adipeux, s'exercent au niveau même de la dégradation des Triglycérides. Les détails des mécanismes mis en jeu, et leur signification physiologique échappent encore souvent à l'expérimentateur : en particulier la multiplicité et l'apparente indépendance des facteurs régulateurs impliqués. Il est cependant très vraisemblable que le système nerveux autonome et les amines sympathomimétiques jouent un rôle de premier plan dans cette régulation, de même aussi que les peptides d'origine pituitaire.

1) Valeurs normales :

Un des aspects les plus caractéristiques de la lipolyse "in vitro" est la grande variabilité de la quantité d'Acides Gras libérés par le tissu adipeux. Négative dans les tissus d'animaux nourris aux hydrates de carbone, elle atteint la valeur de 4 à 6 mEq par heure et par gramme de tissu chez les animaux à jeûn. De plus, au sein d'un même lot, les taux d'Acides Gras libérés peuvent varier largement d'un animal à un autre : ceci reflète, dans une certaine mesure, le niveau de stimulation hormonale et neurovégétative auquel le tissu était sujet au moment du sacrifice.

La quantité de glycérol formée dans le tissu d'animal nourri est de l'ordre de 1,5 μ moles /g de poids frais/heure (130), (235). Elle atteint au moins 3 μ moles, dans le tissu d'animal à jeûn. La libération du glycérol continue en présence de Glucose et d'Insuline, c'est-à-dire lorsque la captation d'Acides Gras est stimulée, démontrant ainsi que la lipolyse et la lipogénèse sont des processus contemporains.

2) Régulation métabolique:

L'addition de glucose dans le milieu d'incubation diminue la quantité d'Acides Gras libérés, sans modifier la production de glycérol (130), (235), (77) ; cette action est évidemment liée, d'une part à l'augmentation des capacités de synthèse d' α glycérophosphate, donc de Triglycérides, d'autre part au maintien d'une lipolyse non altérée.

L'insuline stimule les diverses voies d'utilisation du Glucose. Lorsqu'elle est associée au glucose, les quantités d'Acides Gras libérés sont minimales (76), (130). Il semble donc que les effets primaires exercés par l'Insuline sur la mobilisation des graisses, soient imputables aux actions propres de l'hormone sur le métabolisme glucidique.

De fortes concentrations en Acides-Gras, suppriment la libération d'Acides Gras du tissu (175), (7). Les mouvements des Acides Gras semblent donc dépendre des concentrations d'acides gras de part et d'autre de la membrane cellulaire.

La nature des Acides Gras libérés au cours du jeûne a été entreprise : les principaux sont les acides Palmitique, Oléique et Linoléique (213).

3) Régulation hormonale:

a) Les hormones lipolytiques (adipokinétiques)

Onze composés hormonaux, au moins, sont susceptibles de stimuler "in vitro", la lipolyse ; ce sont :

- l'Adrénaline (76) (257)
- la Nor-Adrénaline (257)
- l'hormone corticotrope (ACTH) (258) (103)
- le Glucagon (215) (80) (233)
- l'hormone Thyroïdienne (TSH) (63)
- l'hormone Mélanotrope (MSH) (169) (189)
- la Vasopressine (256) (189)
- la fraction H pituitaire (191)
- les peptides pituitaires I et II (3)
- l'hormone de croissance (STH) (256) (129).

Parmi toutes ces substances, seules les cinq premières activent la lipolyse par effet direct sur les lipases du tissu adipeux.

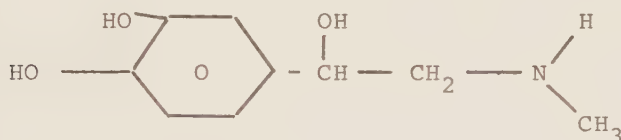
b) Rapport entre l'activité lipolytique et la structure chimique.

Selon leur structure, on distingue deux groupes d'hormones lipolytiques : des amines aromatiques et des peptides. RUDMAN et Coll. (190) ont énoncé les règles reliant l'activité lipolytique à la structure chimique. Pour le groupe des peptides, les résidus Arginine et Tyrosine sont indispensables. Un résidu acide aminé dicarboxylique (Glutamique ou Aspartique) séparé de l'Arginine par 2 (ou 5) acides aminés, est également essentiel.

Le modèle structurel de base nécessaire serait donc la séquence suivante :

... Tyr - A - B - Glu - C - D - Arg ...

Toutefois il faut noter que ces règles ne s'appliquent pas à toutes les espèces. Seuls, le Rat et le Lapin semblent obéir à ces critères. En ce qui concerne les amines, la structure de base doit comprendre un groupement aminé séparé du cycle benzénique par une chaîne carbonée à 2 ou 3 atomes de carbone. L'activité lipolytique est renforcée par la substitution du cycle par deux hydroxyles, et par la présence d'une fonction alcoolique ou cétonique sur le carbone β de la chaîne aliphatique.



Adrénaline

Il est tentant de conclure une grande similitude de structure entre la séquence active des peptides et la formule des catécholamines. En effet la chaîne latérale du résidu Arginine, chargée positivement, se dispose à distance fixe du résidu aromatique de la Tyrosine et présente certaines analogies avec le groupement aminé positif des catécholamines lui-même à distance fixe du noyau benzénique. (188).

c) Actions des Catécholamines, de l'ACTH, du Glucagon et de la TSH :

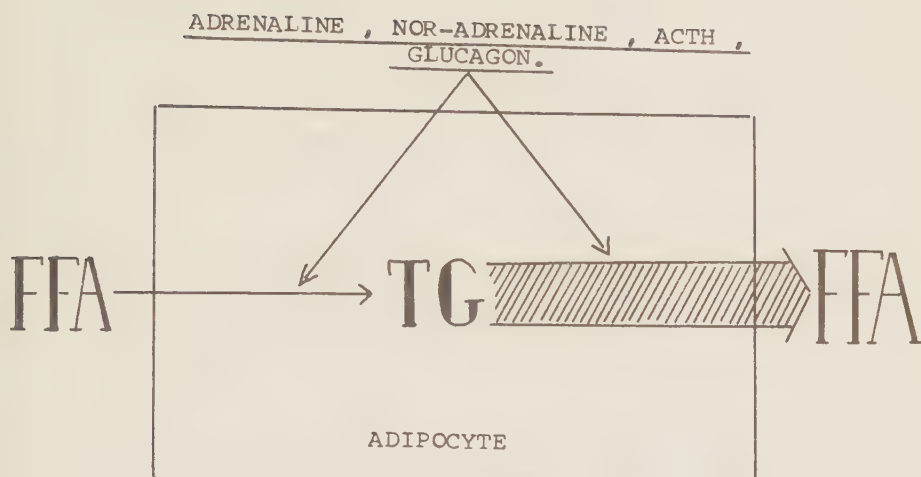
RABEN et HOLLENBERG (167) montrent que le traitement du Rat par l'Adrénaline s'accompagne d'une élévation du taux plasmatique d'Acides Gras non estérifiés. L'administration d'ACTH donne le même résultat (103). Des effets similaires, mais retardés, sont constatés avec le Glucagon (215) : l'injection de l'hormone pancréatique provoque d'abord une chute rapide du taux d'Acides Gras plasmatique, conséquence de l'hypoglycémie induite par l'hormone (135), puis vers la quatrième heure, une augmentation nette de ce taux est enregistrée.

Dés 1959, LEBOEUF (130) constatant que l'Adrénaline stimule la captation du glucose et la libération des acides gras, par le tissu adipeux "In vitro", propose une explication, en vertu de laquelle l'origine des acides gras libérés est liée à l'augmentation de la dégradation des Triglycérides. Le Glucagon et l'ACTH augmentent également l'incorporation du glucose dans le tissu, (133) (65) (80), (233), (56).

La biosynthèse des Acides Gras à partir du glucose, préalablement stimulée par l'Insuline, est déprimée par l'Adrénaline (37) et l'ACTH (140). L'oxydation du carbone 6 du glucose est stimulée par l'Adrénaline, le Glucagon (232), (80), (64) et l'ACTH (140). Ces trois hormones augmentent les pools de l'acide Lactique, du glycérol et des Acides Gras. De plus elles augmentent la consommation d'oxygène par le tissu (161), (81). Cette consommation accrue en oxygène est liée à l'augmentation générale de substrats réduits, provenant de l'accélération de la glycolyse. En effet l'Adrénaline, l'ACTH, le Glucagon stimulent le catabolisme du lactate en CO_2 , au détriment de l'anabolisme des Acides Gras à partir de ce substrat. La synthèse accrue d' α glycérophosphate, nécessitée par la réestérification qui accompagne toute lipolyse (216), (217), (81), (234), (237), consomme du NADH_2 . Le NAD produit, est immédiatement utilisé par l'oxydation du 3 Phosphoglyceraldéhyde en Pyruvate et Acétyl CoA. Ces hormones augmentent donc le pool d'Acétyl Co A ; comme par ailleurs, elles provoquent une diminution de la synthèse des Acides Gras, les Catécholamines et l'ACTH détournent le catabolisme du glucose de la voie des Pentoses, au profit de la glycolyse. (39), (37), (140), (128), (197).

La découverte, en 1961, de la lipase hormonosensible (ou Triglycéride lipase) (176) va permettre de grands progrès dans la compréhension de la régulation hormonale de la lipolyse. Peu de temps après, l'existence dans le tissu adipeux d'Adrénaline, de Nor - Adrénaline et de Dopamine est prouvée (162), (205), (206). L'emploi de substances bloquant les récepteurs adrénergiques abolit la lipolyse induite par les catécholamines. L'étude de la nature des acides gras libérés sous l'effet des Catécholamines, de l'ACTH, ou du Glucagon, montre que les Acides Gras produits sont identiques à ceux qui sont libérés normalement par le tissu, en dehors de toute stimulation (102), (97).

VAUGHAN et STEINBERG (236) montrent que les catécholamines, l'ACTH et le Glucagon stimulent aussi la lipogénèse. Cependant l'augmentation du taux d'estérification est plus faible que l'accroissement de la lipolyse (240).



Bien que l'augmentation de la lipolyse, sous l'effet de ces hormones, résulte de l'activation de la lipase hormonosensible (102), (97), (101), (237) (99), (104), le mécanisme par lequel l'ACTH intervient a été longtemps discuté. On a tout d'abord pensé que l'ACTH agissait "in vitro" par l'intermédiaire des catécholamines (233). De fait, de nombreux adrénolytiques semblaient s'opposer aux effets lipolytiques de l'ACTH (192). Le traitement par la Réserpine en particulier (162). Cependant cette hypothèse fut bientôt détruite (55), (98), et maintenant abandonnée. L'ACTH s'individualise dans le groupe des hormones lipolytiques par le fait qu'elle exige la présence d'ions calciques pour agir, (137). De plus c'est l'hormone lipolytique la plus puissante in vitro (250) : sur une base molaire, l'ACTH est 100 fois plus active que le Nor - Adréraline.

L'Adréraline, la Nor - Adréraline, l'ACTH, le Glucagon et la T S H, restaurent l'activité lipolytique du tissu adipeux (237) par activation de la Triglycéride lipase (ou lipase hormonosensible) (177). L'AMP cyclique, cofacteur nécessaire à cette activation, est lui-même présent dans le tissu adipeux (232) (225). Sa biosynthèse à partir de l'ATP est stimulée par les Catécholamines, l'ACTH, le Glucagon et la T S H, par effet direct de ces hormones sur la production d'Adénylcyclase (250), (166). Ce mode d'action semble être assez général : il a été retrouvé pour d'autres systèmes enzymatiques dont l'activation est réalisée par ces hormones :

- activation des déphosphophosphorylases musculaires par l'Adrénaline, hépatiques par l'Adrénaline et le Glucagon, du Cortex surrénalien par l'ACTH, augmentation de la synthèse d'AMP cyclique dans ces différents tissus, ainsi que dans la Thyroïde sous l'effet de la TSH. (170), (225), (224), (91), (166), (34), (120).

De toute évidence, le mécanisme d'action primaire de ces hormones sur la lipolyse s'exerce donc par la stimulation de l'Adényl cyclase.

Le mode d'action des autres hormones adipocinétiques est plus obscur : la STH, certes, produit "in vivo" une élévation du taux plasmatique d'acides gras, mais "in vitro" l'action lipolytique n'apparaît que pour des concentrations excessives par rapport à celles utilisées "in vivo". Son activité lipolytique semble donc être liée, en partie du moins, aux traces d'ACTH et de TSH qui contaminent les préparations de l'hormone de croissance (237), quant aux autres facteurs lipolytiques, leur activité se manifeste surtout sur le tissu adipeux de Lapin, et de Cobaye, elle est nulle chez le Rat et le Porc (189).

Mis à part ces composés adipocinétiques majeurs, certains stéroïdes, particulièrement les glucocorticoïdes, exercent une activité lipolytique réduite (113). Pour expliquer cette propriété, deux modes d'action ont été proposés : pour SHAFRIR (198), lorsque l'on injecte de l'Adrénaline à un chien surrénalectomisé, il n'y a pas d'élévation du taux des acides gras plasmatiques, alors que la répétition de l'expérience sur le même animal traité par la Cortisone s'accompagne d'une élévation du taux plasmatique des acides gras. SHAFRIR suggère que la Cortisone facilite l'action de l'Adrénaline (c'est l'effet permissif des glucocorticoïdes) (109), (110) (71). Pour SCOW (195), l'administration de Cortisone au Rat pancréatectomisé et surrénalectomisé est suivie d'une élévation de la concentration plasmatique des corps cétoniques, ce qui implique une action lipolytique directe de la Cortisone au niveau du tissu adipeux. Cette dernière expérience a été confirmée par des études similaires réalisées "in vitro" (193), (70), (59), (131), qui, de plus, ont montré que l'action lipolytique des glucocorticoïdes s'exerce parallèlement à une inhibition du métabolisme glucidique. Cette constatation est donc en opposition flagrante avec un éventuel "effet permissif" de la Cortisone sur l'action lipolytique de l'Adrénaline, puisque toute lipolyse induite par les catécholamines s'accompagne d'une stimulation secondaire du métabolisme du glucose.

D'autres stéroïdes en particulier les Androgènes, possèdent une action lipolytique directe sur le tissu adipeux. La Testostérone, par exemple, exerce, à dose égale et "In vitro", un effet comparable à celui de la Corticostérone ou du Cortisol (114). Cette action n'apparaît cependant que chez le Rat soumis au jeûne pendant 44 heures. La signification biologique de cet effet demeure douteuse: tout au plus peut-on dire qu'il est démontré cliniquement, que l'administration prolongée d'Androgènes a pour résultat une perte progressive des réserves lipidiques (126) (159).

d) Les hormones antilipolytiques :

La plupart des données portant sur la régulation de la lipolyse intéressent surtout les facteurs activateurs ; peu d'informations concernent les substances naturelles qui s'opposent à la dégradation des Triglycérides. Parmi celles-ci, il faut citer diverses hormones parmi lesquelles les plus importantes sont l'Insuline, l'Ocytocine, la Prolactine et les Prostaglandines.

L'Insuline, administrée chez l'Homme ou l'Animal normal, produit une réduction très marquée du taux d'acides gras plasmatiques. Cette réduction résulte d'une diminution des décharges d'acides gras par le tissu adipeux, et non d'une captation accrue de ces acides par d'autres tissus (74). Cette action due à l'Insuline est directement liée aux effets exercés par l'hormone sur le métabolisme glucidique dans l'adipocyte : en présence de glucose, l'Insuline accroît les possibilités d'estérification des acides gras en élevant la concentration d' α glycérophosphate (263). Cette stimulation de la lipogénèse pourrait à elle seule expliquer la diminution de la lipolyse. Les expériences de JUNGAS et BALL (116) indiquent, cependant, qu'à cette action primaire pourrait s'ajouter un effet inhibiteur de l'Insuline sur la lipase hormono-sensible, la somme de ces deux mécanismes entraînant une réduction notable de la production des Acides gras par lipolyse.

Comme l'Insuline, l'Ocytocine réagit sur le tissu adipeux de Rat, "in Vitro", en augmentant la captation du glucose et son oxydation, en accroissant la lipogénèse, en stimulant la production de CO_2 à partir du carbone 1 du glucose, en stimulant l'incorporation des carbones 1 et 6 du glucose dans les Triglycérides (151), (183). De plus, "in vitro" (189) comme "in vivo" (150) elle s'oppose à l'hydrolyse des Triglycérides. Exprimée sur une base molaire, l'activité de l'Ocytocine est trois cents fois plus faible que celle de l'Insuline.

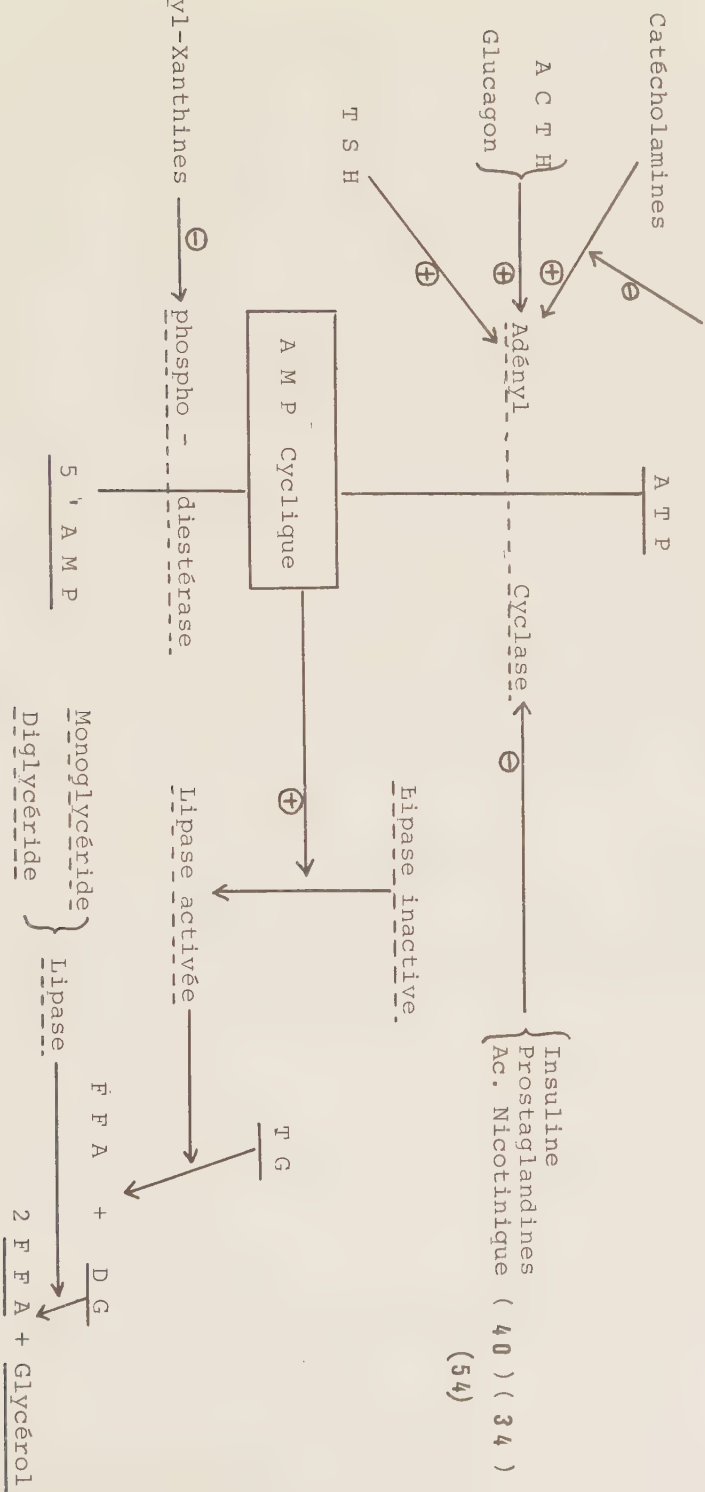
Un autre peptide d'origine hypophysaire, la Prolactine, semble exercer à fortes concentrations seule-

ment, une action "Insuline like", sur le tissu adipeux du Rat (262).

Un autre groupe de facteurs hormonaux capables de s'opposer à l'hydrolyse des Triglycérides du tissu adipeux, a été reconnu dans les Prostaglandines. Originellement décrites comme des substances lipidiques vasodépressives, présentes dans la Prostate et le liquide séminal (72), (243), leur structure a depuis été établie, et leur existence à très faible concentration dans la plupart des tissus, a été démontrée (20). La Prostaglandine E_1 (PGE_1) abaisse faiblement mais de manière significative, la production de glycérol par le tissu adipeux, en l'absence de glucose ou de toute hormone (219), (220). L'effet inhibiteur qu'elle exerce en outre sur la lipolyse induite "in vitro" et "in vivo" par les catécholamines, l'ACTH, le glucagon ou la TSH, est beaucoup plus intéressante à considérer (219), (220), (15), (17), (18), (19), (16), (222), (21), (124). PGE_1 semble également s'opposer faiblement à l'activation des Phosphorylases induite par l'Adrénaline (220). De plus, elle réduit la quantité d'Acides Gras libérés sous l'effet des méthylxanthines (Théophylline, Caféine ...) (207). Toutes ces propriétés suggèrent que PGE_1 inhibe la lipolyse par action directe au niveau des mécanismes d'activation de la lipase hormonosensible, probablement en s'opposant à la synthèse de l'AMP cyclique (34), (163).

Le schéma suivant résume les mécanismes impliqués dans la lipolyse et leur régulation par diverses hormones et certains composés doués d'activité pharmacologique .

α et β Adrénolytiques (4)



4) Régulation nerveuse:

L'importance des fibres sympathiques innervant le tissu adipeux, dans les mécanismes régulateurs de la lipolyse, a été largement démontrée (255), (134). Par exemple, l'administration "in vivo" d'Hexaméthonium, ou d'autres ganglioplégiques, s'accompagne d'une chute importante du taux plasmatique d'Acides gras (89) ; de même, la stimulation électrique des fibres nerveuses du tissu adipeux épидидymaire, entraîne "in vitro", une très forte augmentation de la quantité d'Acides Gras libérés (46).

Cette régulation nerveuse de la lipolyse s'exprime très probablement par l'intermédiaire de la Nor-Adrénaline libérée, par le stimulus, aux extrémités post-ganglionnaires sympathiques. Les mécanismes régulateurs de la lipolyse sont donc similaires, qu'il s'agisse d'une stimulation directe par les catécholamines exogènes, ou d'une stimulation indirecte par le système nerveux autonome.

Pour conclure, il ne faudrait pas sous estimer le rôle physiologique important joué par la mobilisation des graisses dans l'adaptation des mammifères au jeûne, au froid, à l'exercice, à la peur, et dans la croissance et la reproduction. Le système neuroendocrinien représente dans ces diverses situations le stimulus nécessaire à la mobilisation des Acides Gras ; il s'exprime soit par une sécrétion accrue de substances adipokinétiques, soit par une diminution de la sécrétion d'Insuline. La fonction lipolytique est certainement primordiale car les Acides Gras libérés sont utilisés directement par les tissus comme source d'énergie : cette utilisation a lieu constamment, mais elle est particulièrement intense lorsque le métabolisme des hydrates de carbone est perturbé , comme c'est le cas dans le diabète ou lors du jeûne.

II / ETUDE MICROSCOPIQUE

De nombreux travaux portant sur la mobilisation des graisses du tissu adipeux ont été effectués en microscopie électronique. Tous s'accordent sur l'absence de substance lipidique identifiable dans l'espace périvasculaire compris entre l'adipocyte et l'endothélium.

Dans le cytoplasme des adipocytes de l'animal nourri, WASSERMANN et MC DONALD (247), ont reconnu la présence d'un grand nombre de granules denses, les Lipomicros. Ces formations représentent, sans doute, des gouttelettes lipidiques en transit, depuis la surface de la cellule vers le globule graisseux central. Depuis, ces particules ont été reconnues dans toute cellule graisseuse normale (259) mais jamais dans les adipocytes d'animaux à jeûn.

Les différents types de lipides présentent des propriétés physico-chimiques diverses qui influent sur leur distribution au sein du tissu. Les gouttelettes lipidiques comprennent essentiellement des lipides apolaires, les Triglycérides, groupés sous forme d'agrégats sphériques par des liaisons de Van der Waals. A leur périphérie, c'est-à-dire à l'interface lipide - eau, se trouve une couche de lipides polaires, (Phospholipides, Cérébrosides et Cholestérol), dont l'extrémité apolaire se dispose dans la phase lipidique et le groupement polaire dans la phase aqueuse. Les Acides Gras libres, molécules hautement polaires au pH physiologique, ont également tendance à s'accumuler à l'interface.

Il est maintenant bien établi que la forme sous laquelle les lipides sont libérés par le tissu adipeux, sont les Acides Gras non estérifiés. Cependant, le point précis où a lieu l'hydrolyse des Triglycérides n'est pas encore bien localisé. Si celle-ci se produisait à la surface cellulaire, il devrait être possible d'identifier des gouttelettes lipidiques en transit dans le cytoplasme depuis la vacuole centrale. Leur absence suggère plutôt que l'hydrolyse ait lieu à l'interface cytoplasme - globule graisseux central.

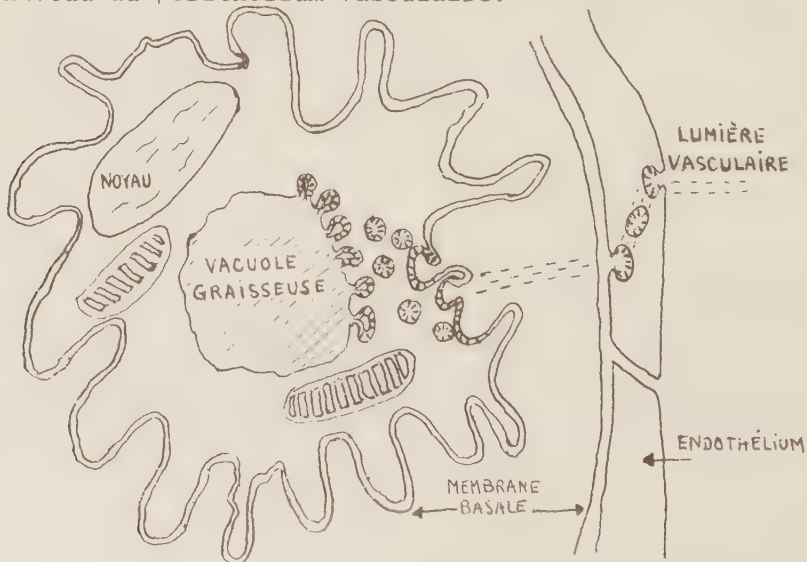
Les Acides Gras résultant de la lipolyse devrait requérir un système transporteur compatible avec leur caractère polaire. Ainsi, ils pourraient se combiner avec une protéine cytoplasmique, le complexe formé ayant une structure analogue à celle de l'association Sérum-Albumine Acides Gras libres. Ils pourraient aussi s'organiser en micelles. Enfin, ils pourraient être transportés en association avec les membranes lipoprotéiques.

Mais les nombreuses microvésicules observées par microscopie électronique, dans le cytoplasme des adipocytes partiellement délipidés, évoquent plutôt leur participation possible dans le transport des Acides Gras libres. (que leur structure soit considérée comme un repli de la face interne du sac membraneux de l'adipocyte, ou comme micelle, ou encore comme un complexe lipoprotidique).

Cette hypothèse du transport des Acides Gras libres par ces microvésicules, implique l'isolement de leur contenu du reste du cytoplasme. La nécessité de ce cloisonnement est d'ailleurs confirmé par les études métaboliques montrant que les Acides Gras libérés par la lipolyse sont anatomiquement séparés des Acides Gras captés par le tissu adipeux (52).

En résumé, et selon WILLIAMSON (259), les diverses phases de la lipolyse sont les suivantes :

- Les Triglycérides, constituant la vacuole centrale, sont hydrolysés en Acides Gras.
- Ceux-ci s'orientent à l'interface, le groupement carboxylique vers la phase aqueuse cytoplasmique.
- Les Protéines du cytoplasme s'associent aux Acides Gras, ébauchent une membrane, et élaborent une microvésicule.
- Celle-ci traverse le cytoplasme, fusionne avec la membrane plasmatique, puis éclate en libérant les Acides Gras. Ceux-ci traversent la membrane basale, ils cheminent dans l'espace périvasculaire et rejoignent la circulation sanguine après avoir reconstitués de nouvelles vésicules au niveau du périthélium vasculaire.



IIe PARTIE

LES CONSTITUANTS LIPIDIQUES

DU TISSU ADIPEUX

ETUDE ANALYTIQUE DES PHOSPHOLIPIDES
DES TISSUS ADIPEUX EPIDIDYMAIRES DE RAT ET
SOUS-CUTANE ABDOMINAL DE L'HOMME.

Deux caractères définissent le tissu adipeux : sa faible teneur en eau et sa grande richesse en lipides. Ces lipides sont essentiellement constitués d'esters du glycérol et d'acides gras. La nature de ces derniers varie en fonction de l'évolution : lorsque l'on passe du règne aquatique au règne terrestre, leur variété et leur degré d'insaturation diminuent. Les acides gras qui deviennent prédominants sont l'acide oléique (18-1) et l'acide palmitique (16-0), celui-ci représentant souvent 20 à 30 % du total.

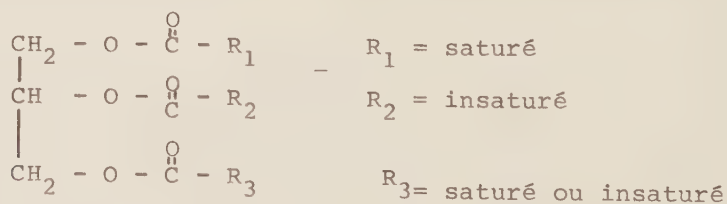
Le tissu adipeux des mammifères renferme 5 à 30 % d'eau, 2 à 3 % de protéines et 60 à 85 % de lipides. Parmi ceux-ci, 95 % sont représentés par les acides gras qu'ils soient ou non estérifiés.

I/ LES LIPIDES NON PHOSPHORES.

1) Les triglycérides.

Les constituants lipidiques majeurs sont les triglycérides qui représentent 90 à 99 % des lipides totaux. Cette proportion varie en fonction du sexe : par exemple, le tissu adipeux de la femme semble plus riche en triglycérides que celui de l'homme (231).

La structure des triglycérides contenus dans les adipocytes est très hétérogène : chaque molécule peut renfermer 2 voire 3 acides gras de nature différente (94) ce qui donne lieu, sur le plan structural, à de multiples combinaisons possibles. Cependant leur distribution ne se fait pas au hasard, au sein d'une même espèce (149). Par contre la proportion de tel acide fixé en α , α' ou β diffère notablement d'une espèce à l'autre. Chez la plupart des mammifères, excepté le porc, la position β est fréquemment occupée par les acides linoléiques (18-2) et oléique (18-1), la position α par le palmitique (16-0) ou le stéarique (18-0) (227). Cette distribution relativement régulière des acides gras dans les molécules des triglycérides est ainsi assez comparable à celle décrite par HANAHAN dans les phospholipides de l'oeuf et les triglycérides hépatiques (83).



A l'intérieur d'une même espèce, la répartition des acides gras constitutifs de triglycérides des différents tissus adipeux semble assez homogène; quelques minimes différences étant, toutefois, constatées d'un territoire à un autre (96) (13). L'influence du sexe sur la nature des acides gras semble nulle. Chez le Rat et chez l'Homme, la proportion de lipides et le degré d'insaturation augmentent avec l'âge (105) (69). La nature des acides gras constitutifs des glycérides varie également mais surtout en fonction du régime alimentaire : une alimentation riche en glucides accroît le degré de saturation (18-0 surtout). La nature des acides gras intervenant dans la composition de la ration alimentaire joue un rôle capital : chez la souris, par exemple, une nourriture riche en linoléate (18-2) s'accompagne d'une augmentation des pourcentages de linoléate, de palmitate (16-0) et de stéarate (18-0) et d'une diminution du pourcentage de palmitoléate (16-1). Par contre, l'ingestion d'acide oléique (18-1) est suivie d'une élévation de la teneur en acide oléique et d'une diminution des teneurs en acides palmitique (16-0) et myristique (14-0) des triglycérides constitutifs des dépôts graisseux (228).

Le tableau suivant donne la composition des principaux acides gras des glycérides du tissu épididymaire de Rat et du tissu adipeux sous-cutané humain. Ces résultats sont exprimés en pourcentage molaire.

AG	!12-0	!14-0	!16-0	!16-1	!18-0	!18-1	!18-2	!18-3
Homme*	! 0,35!	! 2,40!	! 24,60!	! 5,60!	! 6,0!	! 49,90!	! 9,50!	-
Rat**	! 0,60!	! 2,50!	! 22,20!	! 8,10!	! 5,30!	! 33,00!	! 22,30!	! 2,80

* d'après GELLHORN et MARKS (68)

** d'après GELLHORN et Coll. (69)

2) Les acides gras libres du tissu adipeux.

La concentration en acides gras libres du tissu adipeux de Rat et d'Homme est faible. Elle est comprise entre 1 et 2 μ moles par gramme de tissu lorsque l'animal est nourri "ad libitum" ; sa valeur atteint 3 μ moles durant le jeûne, et dépasse 10 μ moles si le tissu a été préalablement traité par l'adrénaline (233), (234).

La nature et la répartition de ces acides libres reflètent assez fidèlement celles de leurs homologues estérifiés, les glycérides, bien que les concentrations de palmitate et palmitoléate soient sensiblement plus élevées et celles de l'oléate et du linoléate plus basses, que dans les triglycérides. Cependant les sept composés majeurs restent les acides myristique, palmitique, palmitoléique, stéarique, oléique, linoléique et linoléinique.

3) L'insaponifiable.

Cette fraction, évaluée par différents auteurs à 0,19 - 1,3 % du poids frais (231) (229) (230), et dont la signification physiologique échappe encore, comprend :

- du cholestérol (0,2 à 0,3 % du poids frais), dont la concentration s'élève avec l'âge (119) ;
- des stéroïdes hormonaux : glucocorticoïdes, androgènes, oestrogènes, désoxycorticostérone, la concentration de chacun d'entre eux variant chez l'Homme, entre 200 et 1 800 μ g /gramme de tissu frais (231) (229) ;
- des Tocophérols (0,002 à 0,005 % du poids frais) dont l'activité biologique au sein du tissu adipeux est à rapprocher de l'action antioxydante exercée par ces substances ;
- des caroténoïdes (230) responsables de la coloration jaune du tissu adipeux ;
- enfin du squalène à l'état de trace (229). 94

II/ LES LIPIDES PHOSPHORES.

Les phospholipides, constituants normaux de toute cellule vivante, sont présents, à faible concentration, et synthétisés dans l'adipocyte (165), (217). Leur participation, globalement, dans la synthèse des triglycérides a été établie (217), (50). Cependant l'étude détaillée de leur intervention dans les phénomènes de captation des divers acides gras circulants, n'ayant pas été effectuée, il nous avait semblé opportun de l'entreprendre, par l'étude "in vitro" de l'incorporation de différents acides gras marqués, dans les divers constituants phospholipidiques

du tissu adipeux. Une étude analytique qualitative et quantitative des phospholipides devenait nécessaire dans un premier temps du fait de l'absence quasi totale de travaux dans ce domaine. C'est ce que nous nous sommes proposés de réaliser, d'abord sur le tissu épидидymaire de Rat, puis sur le tissu adipeux sous-cutané abdominal de l'Homme.

A) MATERIEL ET METHODES.

1) Prélèvement du tissu épидидymaire de Rat.

Les rats utilisés sont des mâles Wistar pesant entre 180 et 250 grammes, recevant "ad libitum" pendant un minimum de 7 jours, le régime témoin de LE BRETON (132). Les animaux sont mis à jeun 16 heures avant le sacrifice, qui a lieu par décapitation.

Après incision ventrale, les deux masses adipeuses épидидymaires sont prélevées. On dissèque très soigneusement le pédicule vasculaire de manière à éviter au maximum la contamination par les lipides sanguins. Le tissu adipeux prélevé est lavé ensuite à quatre reprises, dans une solution de chlorure de sodium à 9 pour 1 000, maintenue à la température de 4°C. Après séchage entre deux feuilles de papier Joseph et de papier filtre, l'échantillon est pesé afin d'en déterminer le poids frais.

2) Prélèvement du tissu sous-cutané abdominal de l'Homme.

Des fragments de tissu adipeux sont prélevés chez de jeunes adultes sains et de sexe masculin, au cours d'appendicectomie, après anesthésie générale. Les masses adipeuses subissent aussitôt le même traitement que précédemment.

3) Préparation de l'extrait lipidique total.

Un broyat tissulaire est effectué, dans un premier temps, à la température ambiante, par trituration du prélèvement au mortier, en présence de sable de Fontainebleau, jusqu'à l'obtention d'une consistance pulvérulente.

50 ml de solvant d'extraction (chloroforme/méthanol 4/1 v/v) sont alors ajoutés ; après un contact d'une heure, temps durant lequel de fréquentes agitations sont pratiquées, la suspension est filtrée une première fois sur filtre Durieux. Puis le contenu du filtre est récupéré, réextrait et filtré dans les mêmes conditions. Les deux filtrats obtenus sont réunis et constituent l'extrait lipidique brut.

* Service de chirurgie générale de l'hôpital intercommunal de Poissy (Dr RONAT) /

Ce dernier, concentré par évaporation à 40°C sous vide, renferme de l'eau. Afin de sécher cet extrait, et du fait de la faible teneur du tissu adipeux en eau et autres constituants organiques, (111), (27), (261), nous n'avons pas utilisé la technique de MASORO et coll. (148), destinée à purifier l'extrait, mais employé plus simplement un séchage par évaporation sous vide avec de l'éthanol absolu. L'extrait sec obtenu, est repris par le chloroforme RP, puis filtré sur amiant sable, évaporé sous vide et enfin pesé. Ceci constitue l'extrait lipidique total.

4) Préparation de l'Extrait phospholipidique total.

La forte concentration en lipides neutres du tissu adipeux, comparée à la faible teneur en phospholipides nous a conduit à adopter, pour la séparation de ces derniers, la méthode de chromatographie sur colonne d'acide silicique, mise au point par HANAHAN et coll. (84), et modifiée par CLEMENT et DI COSTANZO (44).

L'absorbant est un mélange d'acide silicique Mallinckrodt 100 Mesh et de Supercel Standard (Touzard et Matignon) 2/1 en poids, mis en suspension dans du chloroforme RP. Compte tenu des quantités de lipides dont nous disposons habituellement (2 à 6 grammes) nous avons utilisé des colonnes de 3 centimètres de diamètre, garnies de 40 grammes d'acide silicique et 20 grammes de Supercel.

Les éluants versés successivement sur la colonne sont les suivants :

<u>volume</u> en ml	<u>chloroforme</u>	<u>Méthanol</u>
1 000	1	0
500	49	1

Le chloroforme pur élue les graisses non phosphorées, sauf les monoglycérides, lesquels sont à leur tour élués par le mélange chloroforme/méthanol/49/1 (v/v).

Les deux fractions sont réunies, évaporées sous vide et pesées. Elles correspondent à l'extrait lipidique non phosphoré, c'est-à-dire à l'ensemble triglycérides, diglycérides, monoglycérides, acides gras libres, esters du cholestérol, cholestérol libre.

L'adsorbant, qui a fixé les phospholipides, est chassé de la colonne par un courant d'azote sous pression, recueilli et mis en suspension dans 250 ml du mélange chloroforme/méthanol 1/1 (v/v). La suspension est maintenue homogène par de fréquentes agitations pendant une heure, puis filtrée ; le filtre est lavé à plusieurs reprises par le même mélange de solvants, puis par du méthanol pur ; le filtrat obtenu est ensuite concentré sous vide à 36°C. Il constitue l'extrait phospholipidique total. Des parties aliquotes sont alors prélevées en vue d'un dosage de phosphore.

5) Fractionnement des divers phospholipides.

Nous avons choisi la technique de chromatographie en couche mince sur gel de silice. A cet effet, nous avons utilisé des plaques de verre recouvertes d'une mince couche de gel de silice, de 250 microns d'épaisseur, préparées à l'aide d'un appareil DESAGA, selon la technique décrite par STAHL (210).

La phase stationnaire est constituée de Kiesselgel G., Merck, mis en suspension dans de l'eau bidistillée (pH = 7) dans la proportion 1/2 en poids.

Les plaques sont séchées d'abord une demie heure à la température du laboratoire, puis une demie heure à l'étuve à 80°C et enfin activées à 110°C durant deux heures.

L'extrait phospholipidique en solution dans le chloroforme/méthanol 1/1 (v/v) est déposé sur la plaque, à raison d'un maximum de 4 mg de phospholipides par plaque. Une première séparation est obtenue dans le milieu chloroforme/méthanol/eau bidistillée 65/25/4 (v/v/v) selon la technique de WAGNER et coll. (244), en 45 minutes, temps correspondant à une migration de 13 cm.

La révélation des différentes fractions est faite par les vapeurs d'iode, qui laissent apparaître sur le fond blanc cinq groupes de constituants colorés en jaune. Ceux-ci identifiés par comparaison avec des échantillons de référence (Koch-Light), déposés sur chaque plaque. Ainsi apparaissent, comme le montre le schéma n° 1 reproduisant la chromatographie à partir d'échantillons de référence, de bas en haut :

SCHEMA 1

FRONT



PREMIERE SEPARATION DES PHOSPHOLIPIDES SUR GEL DE
SILICE

- A: Lysophosphatidylcholine
 B: Sphingomyéline
 C: Phosphatidylcholine
 D: Phosphatidyléthanolamine
 E: Acide Phosphatidique et Polyglycérophosphatide

- 5 - lysophosphatidyl choline (LPC ou LL)
- 4 - sphingomyélines (S)
- 3 - phosphatidyl cholines et phosphatidyl inositols (PC et PI)
- 2 - phosphatidyl sérines et phosphatidyl éthanolamines (PS et PE)
- 1 - enfin les polyglycérophosphatides et acides phosphatidiques (PGP et AP).

Chaque fraction est récupérée par grattage du gel de silice, puis éluee par le mélange chloroforme/méthanol 1/1 (v/v) et filtrée.

Les fractions 1, 2 et 3 étant elles-mêmes des mélanges, nous avons procédé à une seconde migration de 45 minutes sur couche mince de silicagel avec cette fois, comme milieu de migration, le mélange chloroforme/méthanol/ ammoniaque 14 N RP/eau distillée 65/25/2/2 (v/v), afin d'en séparer les divers constituants. Des échantillons de référence sont déposés sur chacune des plaques. La révélation à l'iode fait apparaître deux constituants dans chaque fraction:

	haut	bas
fraction 1	PGP	AP
fraction 2	PE	PS
fraction 3	PC	PI

(voir schéma n° 2).

Les nouvelles fractions sont récupérées et éluées dans les mêmes conditions que précédemment.

Au total, huit types de composés sont donc obtenus. Des parties aliquotes sont prélevées sur chacun, en vue d'un dosage de phosphore.

Il faut en outre noter que dans les cas où ces séparations ont été effectuées pour l'étude analytique des différents acides gras constitutifs, l'oxydation de ceux-ci, en particulier par les vapeurs d'iode, devant être absolument évitée, le repérage des diverses fractions a été conduit en recouvrant les plaques chromatographiques par une plaque de verre, ne laissant qu'une bande de 2 cm exposée aux vapeurs.

SCHEMA 2

FRONT



DEUXIEME MIGRATION DES PHOSPHOLIPIDES
POUR LA SEPARATION DES AP ET PGP , PE ET PS , PC ET PI.

A: Mélange PI,PC

B: Mélange PS,PE

C: Mélange AP,PGP

6) Microdosage du phosphore lipidique.

Les quantités de phosphore lipidique étant très faibles, nous avons choisi la méthode de FISKE - SUBBAROW (62), modifiée par BARTLETT (10).

Les parties aliquotes sont évaporées sous infra-rouge, puis minéralisées avec 0,5 ml d'acide sulfurique concentré (RP), pendant deux heures, à 280°C. La minéralisation est poursuivie en présence d'eau oxygénée à 30 volumes, encore une heure. Puis on ajoute 8 ml d'eau bidistillée et on porte au bain-marie bouillant pendant 30 minutes, pour obtenir l'orthophosphate. On ajoute encore 0,5 ml d'une solution de molybdate d'ammonium à 5 % et 0,5 ml de réactif de Fiske. On porte à nouveau au bain-marie bouillant pendant 20 minutes. Le dosage se termine par une appréciation de l'intensité de la coloration bleue obtenue au spectrophotomètre à 850 nm.

7) Analyse des acides gras des phospholipides.

Dans un premier temps, les acides gras sont transformés en esters butyliques, par la technique de transestérification, mise au point par CLEMENT et BEZARD (43).

Les phospholipides sont transférés dans des tubes à bouchon rodé, le solvant est évaporé par un courant d'azote et le séchage est achevé par un séjour de 2 heures au dessiccateur sous vide. Dans chaque tube, on dépose un nombre de gouttes variable avec la quantité de phospholipides, d'un mélange N-butanol, acide sulfurique concentré (RP). Les tubes sont maintenus 3 heures durant à l'ébullition et sous atmosphère d'azote. Après neutralisation par une solution de carbonate de potassium à 5 %, les esters butyliques formés sont extraits par du n-pentane Merck.

Dans un deuxième temps, les esters butyliques sont chromatographiés dans les conditions suivantes :

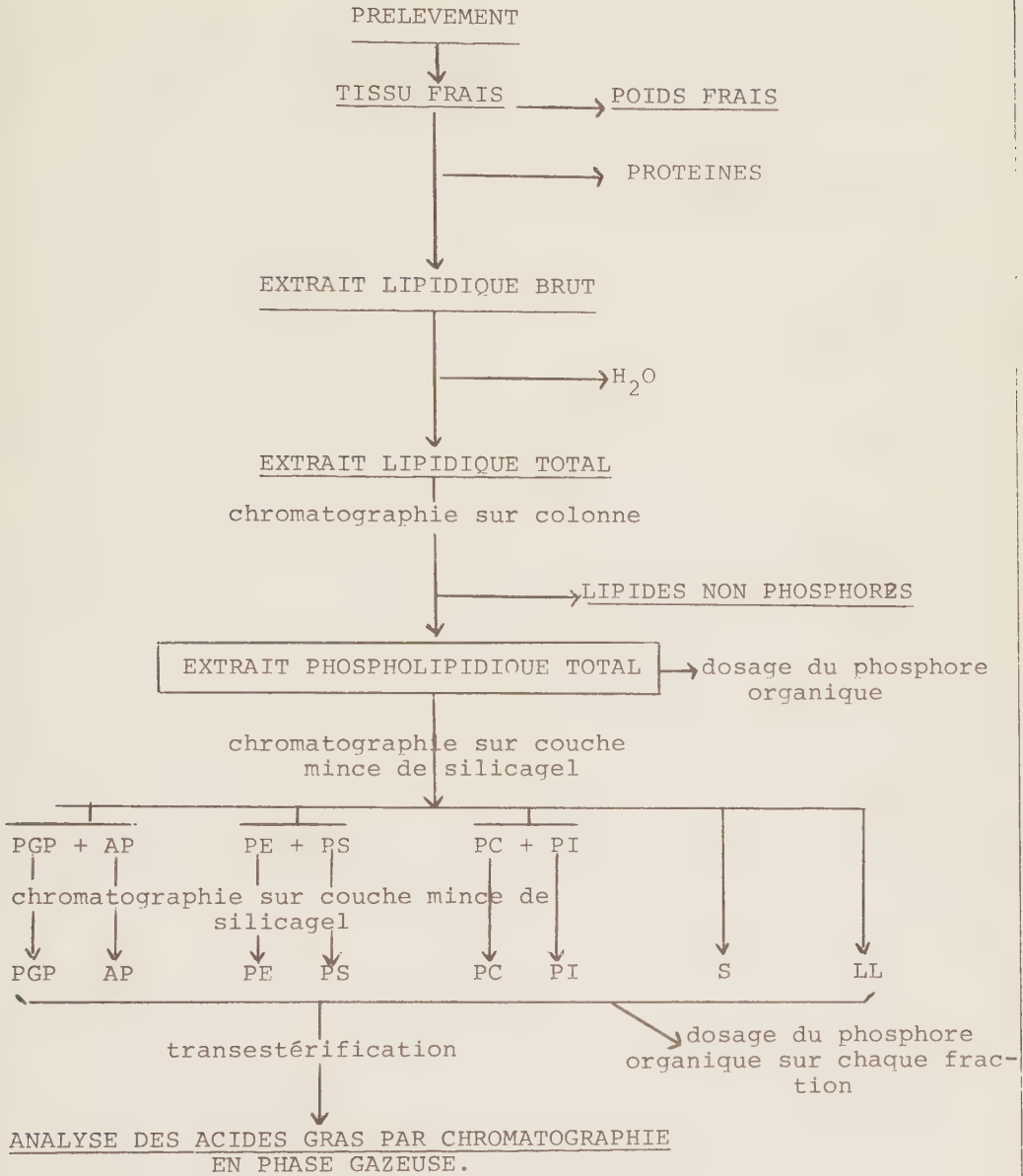
- appareil : Packard, modèle 7 401
- colonne : longueur = 2 mètres
diamètre intérieur = 3 mm
nature du tube : verre
support : DEGS * 25 %, sur chromosorb
W 80 - 100 Mesh
- détecteur : ionisation de flamme
- enregistreur : Honeywell

* DEGS = diéthylène glycol succinate.

- vitesse de déroulement : 5 minutes
- conditions opératoires : isotherme
 - . température de l'injecteur = 230°C
 - . température de la colonne = 185°C
 - . température du détecteur = 215°C
- gaz vecteur : Argon
- flux : 60 ml/minute pour 1,8 kg/cm².

L'évaluation quantitative est faite par la méthode de triangulation et les résultats sont exprimés en pourcentage molaire d'acide gras.

Toutes les techniques utilisées sont résumées dans le schéma n° 3.



B) RESULTATS.

1. Etude quantitative des lipides totaux et des lipides non phosphorés des tissus adipeux épидидymaire de Rat et sous-cutané abdominal de l'Homme.

Dans les tableaux I et II nous avons fait figurer les quantités de lipides totaux et de lipides non phosphorés présents dans les deux types de tissus étudiés, ainsi que les rapports lipides non phosphorés sur lipides totaux.

Le tableau I rapporte les résultats de 11 expériences effectuées sur le Rat, soit au total 27 animaux. Les chiffres relevés dans le tableau II sont ceux de 6 expériences effectuées sur le tissu adipeux sous-cutané abdominal de l'Homme.

Chez le Rat, la concentration moyenne de lipides totaux s'établit à 783 ± 68 mg par gramme de tissu frais. Chez l'Homme celle-ci est supérieure: $873 \pm 29,5$ mg par gramme de tissu frais.

La valeur moyenne de la concentration en lipides non phosphorés, exprimée en mg par gramme de tissu frais, est de 73 ± 69 mg chez le Rat, et de 843 ± 22 mg chez l'Homme. Le rapport lipides non phosphorés sur lipides totaux est égal à $0,936 \pm 0,0$ chez le Rat et $0,965 \pm 0,017$ chez l'Homme.

2. Concentration des phospholipides totaux des tissus adipeux du Rat et de l'Homme.

Nous rapportons dans les tableaux III et IV les quantités de phospholipides présents respectivement dans le tissu épидидymaire de Rat et le tissu sous-cutané abdominal humain. Nous avons également indiqué les quantités de phosphore lipidique correspondantes, les rapports phospholipides par gramme de poids frais et par gramme de lipides non phosphorés (LNP). Enfin, pour faciliter la comparaison nous avons porté dans ces tableaux les poids frais et les quantités de lipides non phosphorés pour chaque expérience.

Dans le tissu épидидymaire du Rat, la concentration du phosphore lipidique, exprimée en μg de phosphore par gramme de tissu frais, varie entre 80 et $138 \mu\text{g}$, pour une valeur moyenne de $106,9 \pm 13,5 \mu\text{g}$. Chez l'Homme cette valeur est plus faible: $73,2 \pm 9,9 \mu\text{g}$. L'expression de ces résultats en μg de phosphore par gramme de lipides non phosphorés donne respectivement $148 \pm 20,6 \mu\text{g}$ chez le Rat et $83,9 \pm 5,3 \mu\text{g}$ chez l'Homme.

Expérien- ce	Nombre d'animaux	Poids frais en g	LIPIDES TOTAUX (L.T.)		LIPIDES NON PHOSPHORES (L.N.P.)		$\frac{L.N.P.}{L.T.}$
			en g	en mg par g de poids frais	en g	en mg par g de poids frais	
1	3	6,3349	4,8510	765	4,5460	717	0,937
2	3	4,6209	3,6318	786	3,4850	754	0,959
3	3	6,1850	5,1345	839	4,7855	773	0,933
4	3	6,6138	5,9035	892	5,6476	854	0,956
5	3	5,3150	3,5630	670	2,7510	517	0,772
6	1	3,3505	3,0732	917	2,5629	765	0,834
7	1	3,1132	2,1244	682	2,0897	671	0,983
8	1	5,0620	3,0061	593	2,9873	590	0,993
9	3	6,9547	3,1383	882	5,8599	842	0,954
10	3	4,7625	3,8269	803	3,7920	796	0,991
11	3	4,6169	3,6531	791	3,6190	784	0,990
				M = 783 ± 67,9			M = 0,936 ± 0,040

TABLEAU I
LIPIDES TOTAUX ET NON PHOSPHORES DU
TISSU ADIPEUX EPIDIDYMAIRE DE RAT

Expérien- ce	Nombre d'é- chantillons	Poids frais en g	LIPIDES TOTAUX (L.T.)		LIPIDES NON PHOSPHORES		$\frac{L N P}{L T}$
			en g	en mg par g de poids frais	en g	en mg par g de poids frais	
1	1	3,1949	2,7341	855	2,6241	821	0,960
2	1	4,8994	4,2813	874	4,0356	823	0,942
3	1	6,5219	5,9610	914	5,7523	882	0,965
4	1	3,1247	2,6337	843	2,6137	836	0,992
5	1	4,3660	3,8893	891	3,7239	853	0,957
6	1	2,8842	2,4919	864	2,4256	841	0,973
			$M = 873$		$M = 843$		$M = 0,965$
			$\pm 29,5$		± 22		$\pm 0,017$

TABLEAU II

LIPIDES TOTAUX ET NON PHOSPHORES DU
 TISSU ADIPEUX SOUS CUTANE ABDOMINAL
 DE L' HOMME

Expé- rien- ce	Nomb- re d'ani- maux	Poids frais en g	Lipides non phos- phorés en g	PHOSPHORE LIPIDIQUE				PHOSPHOLIPIDES (P.L.)		
				P total en %	P en % par g de poids frais	P en % par g de li- pides non phosphorés	PL to- taux en mg	PL en mg par g de poids frais	PL en mg par g de lipides non phosphorés	
1	3	6,3349	4,5460	820	129,5	183	20,50	3,23	4,57	
2	3	4,6209	3,4850	624	135,0	180	15,60	3,37	4,47	
3	3	6,1850	4,7855	705	115,0	147	18,87	2,87	3,67	
4	3	6,6138	5,6476	645	97,5	114	16,12	2,44	2,85	
5	3	5,3150	2,7510	495	93,0	180	12,37	2,32	4,50	
6	1	3,3505	2,5629	464	138,0	181	11,62	3,45	4,52	
7	1	3,1132	2,0897	346	111,0	165	8,65	2,77	4,12	
8	1	5,0620	2,9873	403	79,6	135	10,07	1,99	3,37	
9	3	6,9547	5,8599	690	99,3	117	17,25	2,48	2,92	
10	3	4,7625	3,7920	440	92,4	116	11,00	2,31	2,90	
11	3	4,6169	3,6190	400	86,6	110	10,00	2,16	2,75	
				M = 106,9 ± 13,5		M = 148 ± 20,6		M = 2,67 ± 0,30		M = 3,69 ± 0,50

TABLEAU III

PHOSPHOLIPIDES TOTAUX DU TISSU ADIPEUX
EPIDIDYMAIRE DE RAT

TABLEAU IV

PHOSPHOLIPIDES TOTAUX DU TISSU ADIPEUX

SOUS-CUTANE ABDOMINAL DE L'HOMME

PHOSPHORE LIPIDIQUE			PHOSPHOLIPIDES (P L)						
Expérience	Nombre d'échan- tillons	Poids frais en g	Lipides non phos- phorés en g	P total en %	P en % par g de poids frais	P en % par g de lipides non phos- phorés	P L total en mg	P L en mg par g de poids frais	P L en mg par g de lipides non phos- phorés
1	1	3,1949	2,7341	245	76,7	89,6	6,125	1,92	2,24
2	1	4,8994	4,2813	336	68,6	78,5	8,400	1,71	1,96
3	1	6,5219	5,9610	477	73,1	80,0	11,925	1,83	2,00
4	1	3,1247	2,6337	237	75,8	89,9	5,925	1,85	2,25
5	1	4,3660	3,8893	311	71,2	79,9	7,775	1,78	2,00
6	1	2,8842	2,4919	213	73,8	85,5	5,325	1,85	2,14
				M = 73,2 ± 9,9	M = 83,9 ± 5,3			M = 1,83 ± 0,08	M = 2,10 ± 0,14

Partant des valeurs précédentes et en les multipliant par 25 (le phosphore représentant 1/25^e du poids moyen des phospholipides) nous avons calculé les concentrations correspondantes en phospholipides. Ainsi la concentration de phospholipides, exprimée en mg, contenue dans 1 gramme de tissu frais s'établit à $2,67 \pm 0,30$ mg pour le Rat et à $1,87 \pm 0,08$ mg pour l'Homme.

Enfin, il ressort de ces tableaux que le rapport des phospholipides totaux par gramme de lipides non phosphorés varie entre 2,75 et 4,75 mg pour une valeur moyenne de $3,69 \pm 0,5$ mg chez le Rat, alors que chez l'Homme cette valeur moyenne n'est que de $2,10 \pm 0,14$ mg.

3. Etude qualitative et quantitative des différents phospholipides.

Dans les tableaux V et VI nous avons fait figurer la composition et la répartition des différentes classes de phospholipides analysés dans les deux types de tissus étudiés. Pour chaque phospholipide, la quantité a été calculée à partir de la teneur en phosphore lipidique de chaque fraction multipliée par 25 et rapportée à celle des phospholipides totaux.

La séparation sur couche mince de silicagel nous a permis de séparer et d'identifier huit composés phospholipidiques différents. Les fractions pondéralement les plus importantes sont les phosphatidylcholines et phosphatidyl-éthanolamines, dont l'ensemble représente chez le Rat et chez l'Homme plus de 60 % des phospholipides totaux. Les sphingomyélines et les polyglycérophosphatides sont également abondants : leur taux respectif représente, dans les deux espèces étudiées, environ 10 % des phospholipides présents. Les autres constituants sont mineurs, excepté toutefois les phosphatidylsérines du tissu adipeux de Rat, dont la proportion atteint 8 %.

4. Analyse des acides gras constitutifs des différents phospholipides.

Les tableaux VII et VIII rassemblent les résultats de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse des acides gras intervenant dans la structure de chaque type de phospholipide. La proportion de chaque acide gras est

EXPERIENCE	1	2	3	4	6	7	8	9	
Nombre d'animaux	3	3	3	3	1	1	1	3	Moyenne
Polyglycérophosphatides (PGP)	12,2	7,8	9,8	8,5	10,0	6,6	5,7	6,1	8,3 ± 1,7
Acides phosphatidiques (AP)	2,5	4,3	3,2	5,5	1,8	4,9	6,9	2,1	3,9 ± 1,4
Phosphatidyléthanolamine (PE)	32,8	31,5	30,7	24,2	31,6	27,6	25,8	27,9	29,0 ± 2,6
Phosphatidylsérine (PS)	7,5	8,5	6,3	11,0	7,4	12,7	6,1	7,3	8,3 ± 1,8
Phosphatidylcholine (PC)	30,5	33,9	29,0	26,3	36,1	33,7	40,7	32,6	32,8 ± 3,4
Phosphatidylinositol (PI)	4,5	3,2	6,5	8,0	8,6	5,2	4,2	6,5	5,8 ± 1,4
Sphingomyéline (S)	7,5	8,0	12,0	14,0	3,8	7,8	8,1	14,7	9,5 ± 2,9
Lysophosphatidylcholine (LL)	2,5	2,8	2,5	2,5	0,7	1,5	2,5	2,8	2,2 ± 0,5

TABLEAU V

COMPOSITION ET REPARTITION (en %) *
DES PHOSPHOLIPIDES DU TISSU EPIDIDYMAIRE DE RAT

* Les résultats sont exprimés en % des Phospholipides totaux

Expérience	1	2	3	4	5	6	Moyenne
	1	1	1	1	1	1	
Nombre d'échantillons	1	1	1	1	1	1	
Polyglycérophosphatides (PGP)	9,4	11,4	9,4	6,4	8,2	8,4	8,9 ± 1,7
Acides Phosphatidiques (AP)	2,8	3,6	2,5	2,0	1,6	2,6	2,5 ± 0,7
Phosphatidyléthanolamine (PE)	30,0	30,7	26,6	31,4	25,7	28,7	28,9 ± 2,4
Phosphatidylsérine (PS)	2,8	1,9	4,0	2,7	4,2	2,9	3,1 ± 0,9
Phosphatidylcholine (PC)	35,2	38,8	40,1	36,4	44,0	42,6	39,5 ± 3,6
Phosphatidylinositol (PI)	2,6	2,0	2,7	1,9	1,9	2,1	2,2 ± 0,4
Sphingomyéline (S)	12,1	9,5	9,9	13,4	9,7	9,7	10,7 ± 1,7
Lysophosphatidylcholine (LL)	5,0	2,0	4,5	5,7	4,6	2,8	4,1 ± 1,5

TABLEAU VI

COMPOSITION ET REPARTITION (en %) ^{*} DES
 PHOSPHOLIPIDES DU TISSU HUMAIN SOUS - CUTANE ABDOMINAL

* les résultats sont exprimés en % des Phospholipides totaux.

TABLEAU VII

REPARTITION DES ACIDES GRAS * CONSTITUTIFS
 DES DIVERS PHOSPHOLIPIDES DU TISSU EPIDIDYMAIRE
 DU RAT **

	14-0	16-0	16-1	18-0	18-1	18-2	20-0	18-3	20-2	20-4	% Désaturés	Désaturés Saturés
PGP	10,8	49,8	4,5	20,7	9,2	1,3	traces	2,1	- -	1,6	18,7	0,23
AP	14,3	44,4	4,7	22,8	9,9	2,0	traces	1,9	- -	- -	18,5	0,23
PE	7,9	36,6	8,0	15,0	19,3	9,6	- -	traces	- -	3,4	40,4	0,68
PS	11,9	38,0	8,6	23,4	12,5	2,9	- -	- -	- -	2,6	26,6	0,36
PI	10,6	41,7	7,3	21,4	11,5	2,3	- -	2,5	- -	2,6	26,3	0,36
PC	6,9	33,0	6,7	19,9	18,4	9,8	- -	0,6	- -	4,6	40,1	0,67
S	6,8	34,0	4,4	26,1	11,2	7,4	- -	- -	- -	10,1	33,1	0,49
LL	10,6	39,9	7,1	24,9	11,3	3,4	traces	2,7	- -	traces	24,5	0,32

* = résultats exprimés en pourcentage molaire

** = valeurs moyennes obtenues chez 6 Rats

TABLEAU VIII

REPARTITION DES ACIDES GRAS * CONSTITUTIFS DES

DIVERS PHOSPHOLIPIDES DU TISSU SOUS CUTANE ABDOMINAL

DE L' HOMME **

	14-0	16-0	16-1	18-0	18-1	18-2	20-0	18-3	20-2	20-4	% Désaturés	$\frac{\text{Désaturés}}{\text{Saturés}}$
PGP	7,8	30,5	6,5	11,7	27,2	4,5	traces	6,1	traces	5,6	49,9	0,99
AP	9,1	35,7	7,7	18,2	18,1	3,6	traces	7,7	-	traces	36,9	0,58
PE	9,9	38,9	8,2	15,8	20,7	2,6	1,1	1,3	-	1,4	34,3	0,52
PS	8,4	37,1	8,8	18,3	22,7	2,3	-	2,3	-	traces	36,1	0,56
PI	11,6	34,6	8,0	14,1	24,1	1,7	traces	2,8	traces	3,0	39,6	0,65
PC	9,8	34,6	7,2	17,2	22,6	3,3	-	2,2	3,2	-	38,4	0,62
S	8,7	35,8	9,1	16,5	20,0	2,7	1,4	4,2	-	1,5	37,4	0,60
LL	8,3	37,5	6,7	15,5	25,7	4,6	1,5	traces	-	traces	37,0	0,59

* : résultats exprimés en pourcentage molaire.

** : valeurs moyennes obtenues sur 6 prélèvements.

exprimée en pourcentage molaire. En outre, pour chaque fraction phospholipidique, nous avons porté sur ces tableaux le pourcentage d'acide gras désaturé et le rapport du pourcentage d'acide gras désaturé sur le pourcentage d'acide gras saturé.

Les valeurs de ce rapport montrent à l'évidence que les acides gras saturés prédominent dans les phospholipides des deux types de tissus étudiés. Ce rapport est cependant en moyenne plus élevé chez l'Homme que chez le Rat.

a) Les acides gras saturés.

Il apparaît clairement que dans toutes les fractions analysées, l'acide le plus abondant est l'acide palmitique (16-0) : il représente environ 30 % des acides gras des phospholipides du tissu adipeux humain. Chez le Rat, sa concentration est supérieure (33 % à 50 % selon les fractions). L'acide stéarique (18-0) représente 15 à 26 % des acides gras chez le Rat et seulement 11 à 18 % chez l'Homme. A côté de ces deux acides majeurs, on rencontre de l'acide myristique (14-0) en quantité appréciable (7,8 à 11,6 % chez l'Homme et 6,8 à 14,3 % chez le Rat). Par ailleurs, la plupart des fractions comporte des traces d'acide arachidique (20-0).

Chez le Rat les fractions les plus saturées sont les polyglycérophosphatides (PGP), les acides phosphatidiques (AP) et les lysophosphatidylcholines (LL) et qui de ce fait sont particulièrement riches en acide palmitique. L'acide stéarique est surtout abondant dans les sphingomyélines (S), les lysophosphatidylcholines, les phosphatidylsérines (PS) et les acides phosphatidiques. Les pourcentages molaires de l'acide myristique sont surtout élevés dans les acides phosphatidiques (14,3 %) les phosphatidylsérines (11,9 %), les polyglycérophosphatides (10,8 %), les phosphatidylinositols et lysophosphatidylcholines (10,6 %).

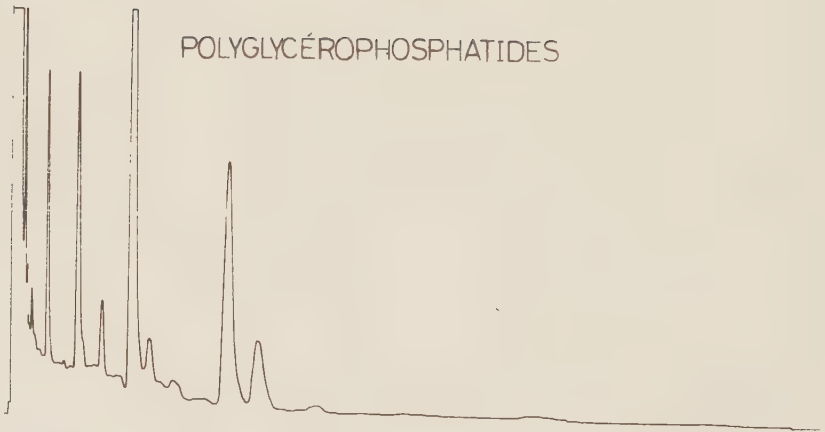
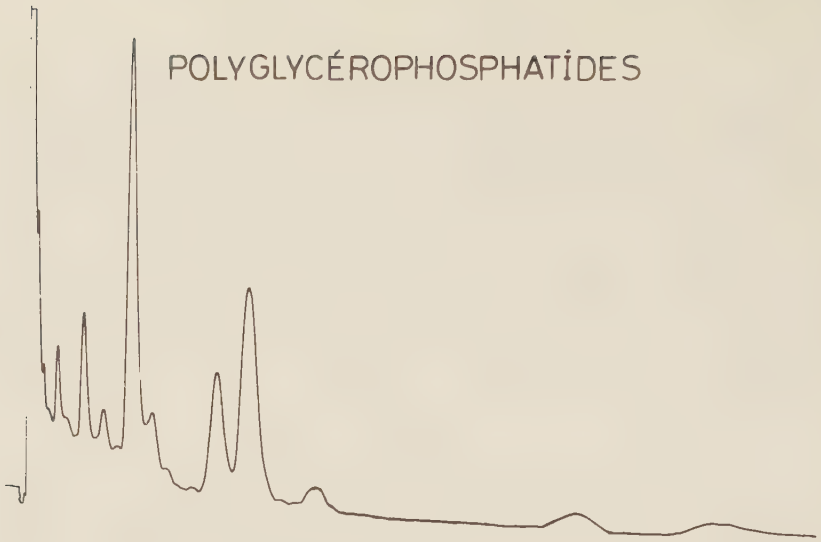
Chez l'Homme, la répartition des acides gras saturés est sensiblement différente. Tout d'abord l'étude des rapports désaturés/saturés indique clairement que les fractions les plus saturées sont les phosphatidyléthanolamines (PE), phosphatidylsérines (PS), acides phosphatidiques (AP) et lysophosphatidylcholines (LL). Les autres fractions

ont un rapport égal ou supérieur à 0,60. L'acide palmitique est surtout abondant dans les phosphatidyléthanolamines (39 %) et lysophosphatidylcholines (37,5 %) ; l'acide stéarique prédomine dans les phosphatidylsérines (18,3 %) les acides phosphatidiques (18,2 %) et phosphatidylcholines (17,2 %). Son pourcentage molaire est minimum dans les polyglycérophosphatides (11,7 % seulement). Les phosphatidylinositols, phosphatidyléthanolamines, phosphatidylcholines et acides phosphatidiques sont les fractions les plus riches en acide myristique. Des quantités mesurables d'acide arachidique (20-0) sont retrouvées dans les lysophosphatidylcholines, sphingomyélines et phosphatidyléthanolamines (1,1 à 1,5 %).

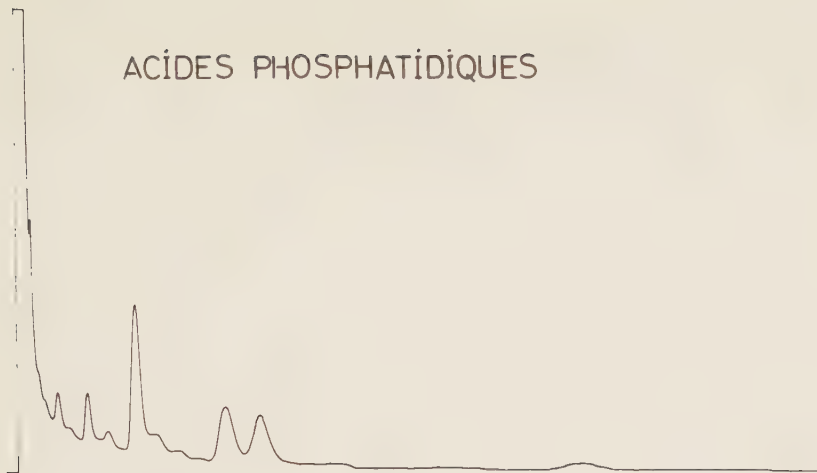
b) Les acides gras désaturés.

L'analyse des acides gras constitutifs des diverses fractions phospholipidiques étudiées montre, parmi les acides gras désaturés, la prédominance des acides oléiques (18-1), palmitoléique (16-1), linoléique (18-2), linoléique (18-3) et arachidonique (20-4). Les pourcentages molaires d'acide oléique varient de 9 à 19 % chez le Rat et de 18 à 27 % chez l'Homme. La teneur en acide palmitoléique varie selon les fractions entre 4,4 et 8,6 % chez le Rat et entre 6,5 et 9,1 % chez l'Homme. Les pourcentages molaires des acides linoléique, linoléique et arachidonique sont plus faibles dans les deux tissus étudiés. De par ces différences, les phospholipides du tissu adipeux humain apparaissent plus désaturés que leurs homologues du tissu épidermique de Rat.

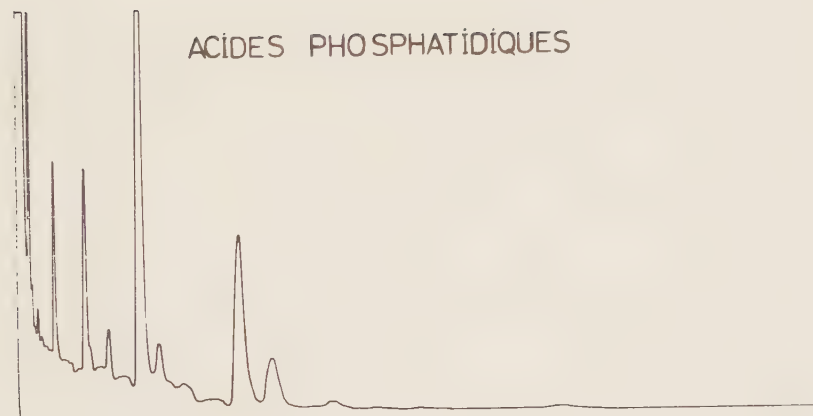
Chez le Rat, les phospholipides les plus désaturés sont les phosphatidyléthanolamines (40,4 %) et les phosphatidylcholines (40,1 %). Ces fractions sont les plus riches en acide oléique, respectivement 19,3 et 18,4 %, et en acide linoléique, respectivement 9,6 et 9,8 %. Les sphingomyélines dont le rapport désaturés/saturés est égal à 0,49, possèdent 7,4 % d'acide linoléique. L'acide palmitoléique est surtout abondant dans les phosphatidylsérines (8,6 %), phosphatidyléthanolamines (8,0), phosphatidylinositols (7,3 %), lysophosphatidylcholines (7,1) et phosphatidylcholines (6,7 %). Seuls les lysophosphatidylcholines, les phosphatidylinositols, les polyglycérophosphatides et acides phosphatidiques renferment des quantités appréciables d'acide linoléique (2,7 % à 1,9 %). Enfin, l'acide arachidonique est particulièrement abondant dans les sphingomyélines (10,1 %) et phosphatidylcholines (4,6 %).



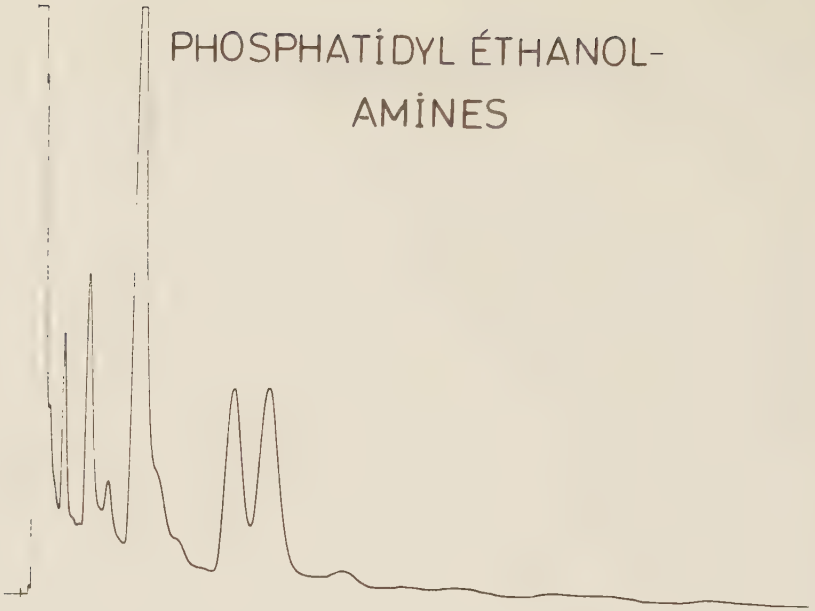
ACIDES PHOSPHATIDIQUES



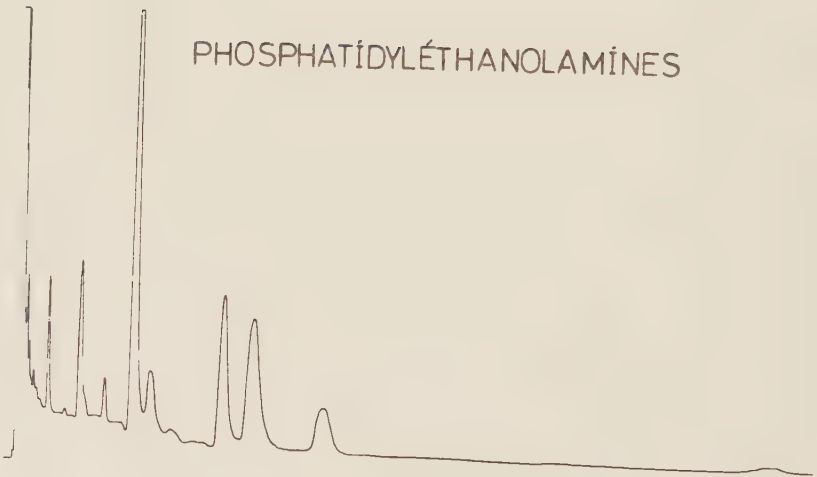
ACIDES PHOSPHATIDIQUES



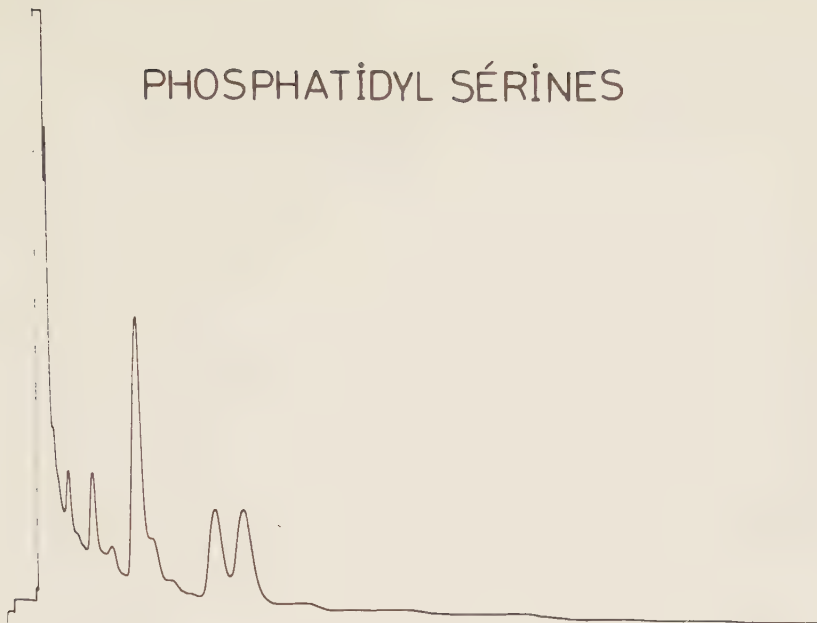
PHOSPHATIDYL ÉTHANOL-AMINES



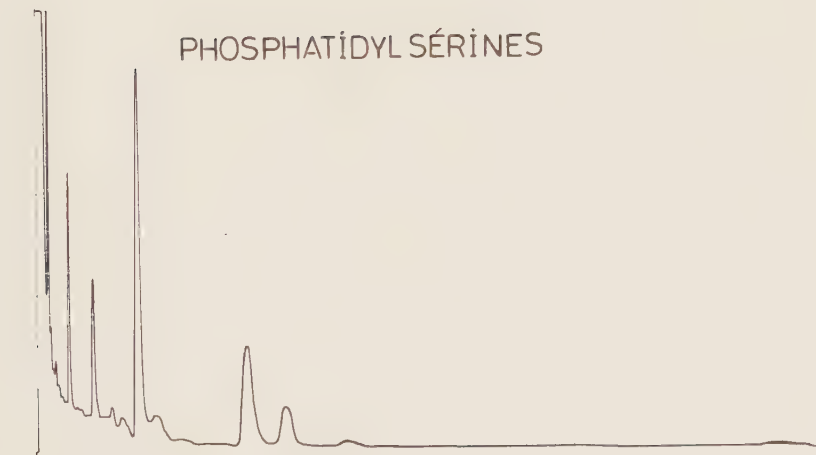
PHOSPHATIDYLÉTHANOLAMINES

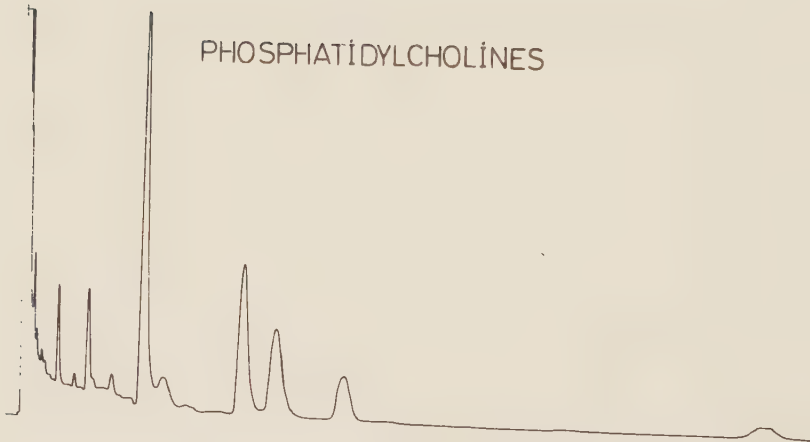
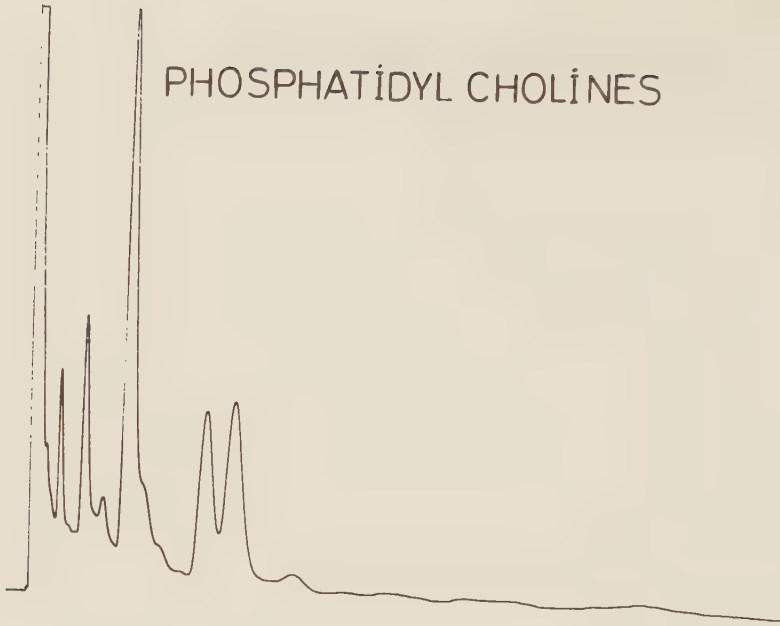


PHOSPHATÍDYL SÉRINES

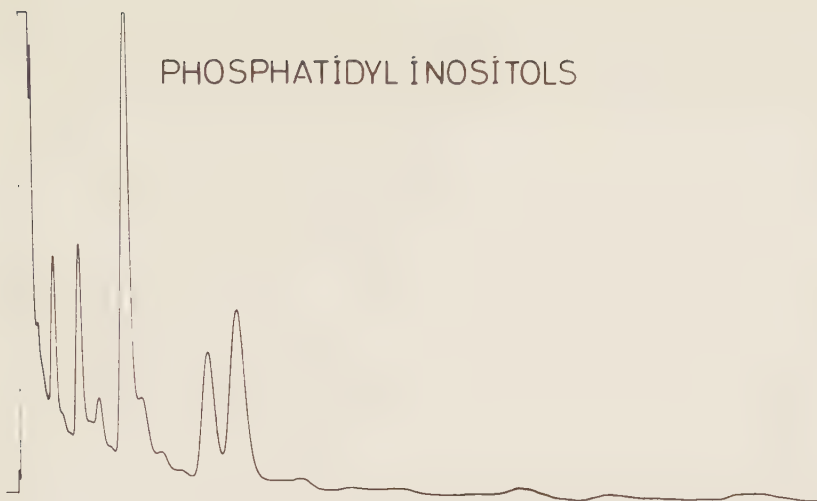


PHOSPHATÍDYL SÉRINES

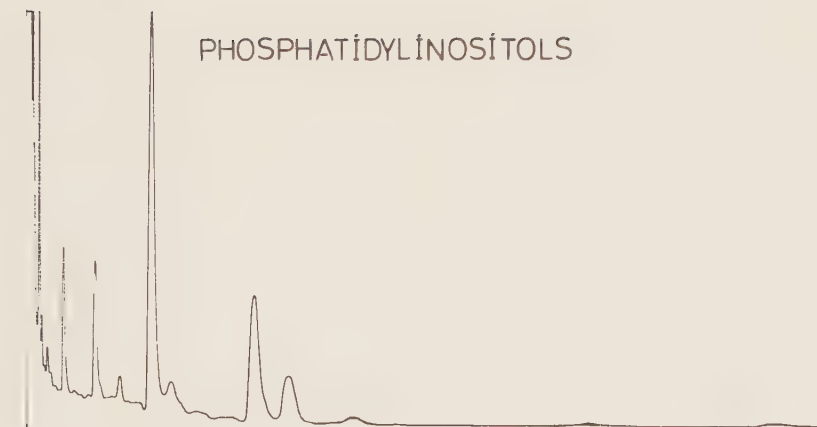




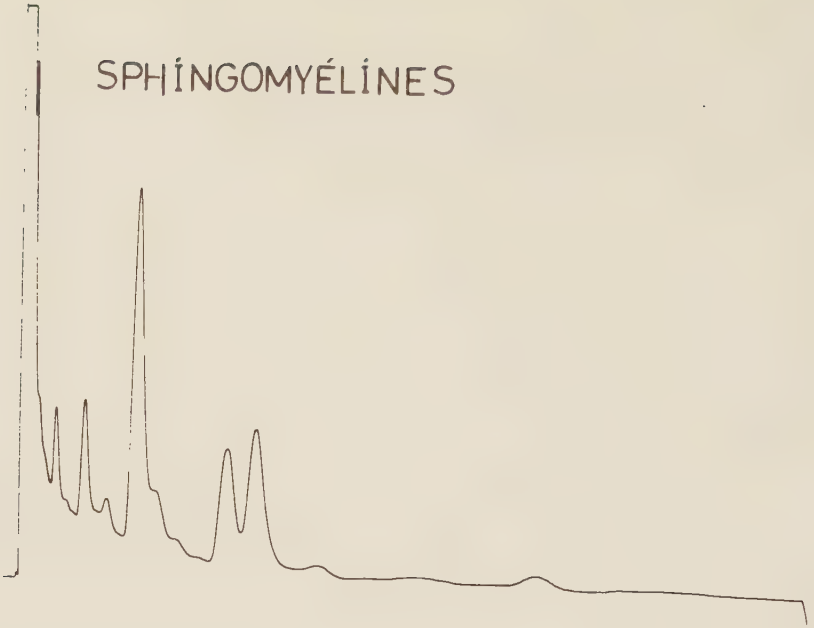
PHOSPHATÍDYL ÍNOSÍTOLS



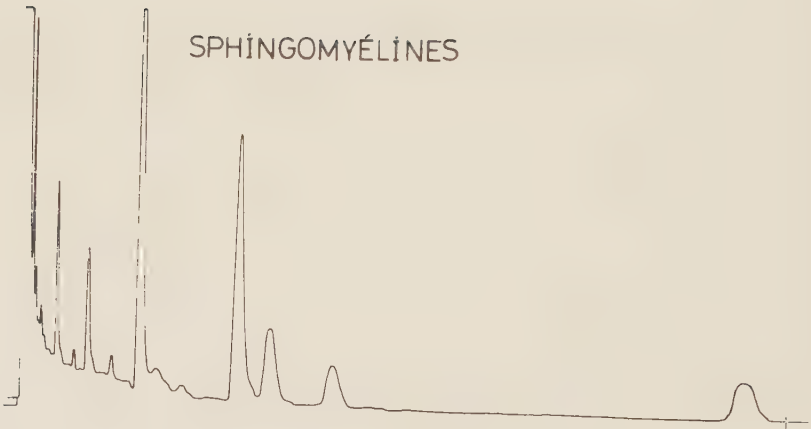
PHOSPHATÍDYL ÍNOSÍTOLS



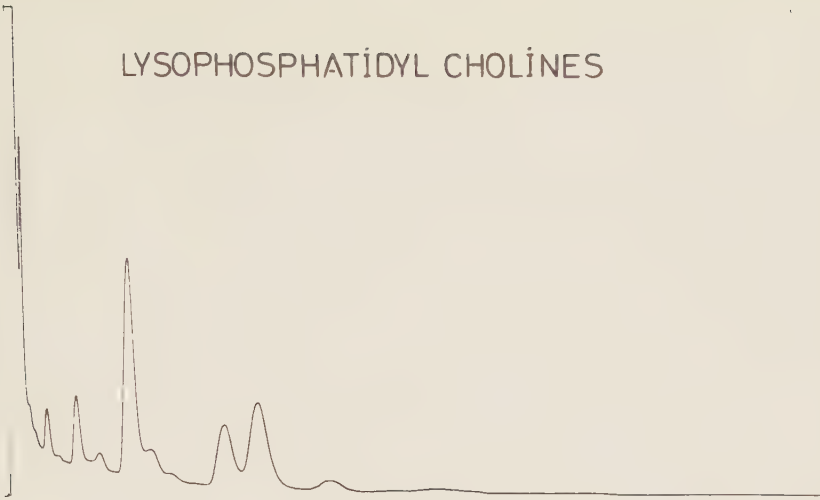
SPHINGOMYÉLINES



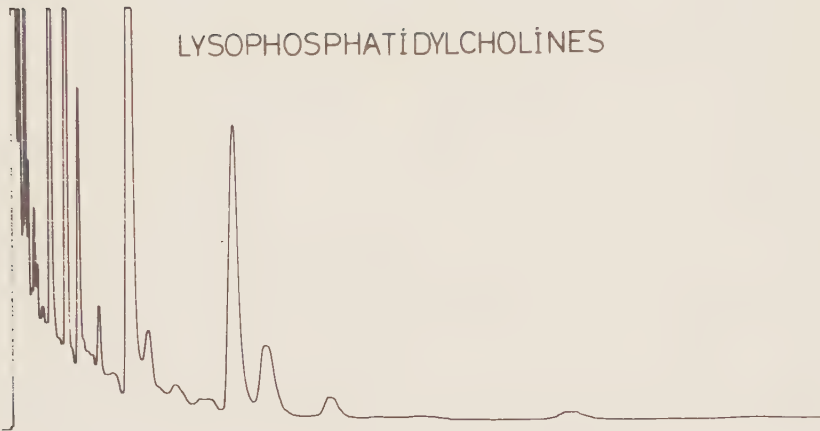
SPHINGOMYÉLINES



LYSOPHOSPHATIDYL CHOLINES



LYSOPHOSPHATIDYLCHOLINES



La répartition des acides gras désaturés dans les phospholipides du tissu adipeux humain est très différente. L'acide oléique, à l'inverse du tissu épидидymaire de Rat, prédomine dans les polyglycérophosphatides et les lysophosphatidylcholines (respectivement 27,2 et 25,7 %). L'acide palmitoléique est surtout abondant dans les sphingomyélines (9,1 %) et les phosphatidylsérines (8,8 %). L'acide linoléique se retrouve essentiellement dans les lysophosphatidylcholines (4,6 %) et les polyglycérophosphatides (4,5 %), alors que l'acide linoléique, pour sa part, prédomine dans les acides phosphatidiques (7,7 %) et les polyglycérophospholipides (6,1 %). Lessphingomyélines du tissu adipeux humain sont moins riches en acide arachidonique que celles du tissu de Rat (1,5 %). Cet acide est surtout présent dans les polyglycérophosphatides. Enfin, il faut noter, contrairement au tissu adipeux de Rat, la présence dans les phosphatidylcholines de 3,2 % d'acide homolinoléique (20-2) et des traces de celui-ci dans les polyglycérophosphatides et les phosphatidyl-inositols.

C - DISCUSSIONS.

1. Lipides totaux et non phosphorés.

Les concentrations en lipides totaux et en lipides non phosphorés par gramme de tissu frais sont respectivement $783 \pm 67,9$ mg et 733 ± 69 mg chez le Rat et $873 \pm 29,5$ mg et 843 ± 22 mg chez l'Homme. Différentes causes sont à l'origine de ces variations sensibles : en particulier, la teneur variable en eau du tissu adipeux, la technique de dissection du tissu frais, au cours de laquelle des quantités variables de tissu conjonctif sont prélevés, enfin l'imperfection des méthodes de séchage, qui laisse subsister des traces d'eau non évaluables.

Selon BOSHART (27), la quantité de lipides totaux par gramme de tissu épидидymaire frais de Rat à jeun serait proportionnelle au poids de l'échantillon lorsque celui-ci est compris entre 0,5 et 1 g. Cette valeur varierait entre 800 et 850 mg pour des prélèvements supérieurs à 1 g. Lorsque le poids frais augmente, la teneur en eau diminue exponentiellement et par conséquent la concentration en lipides totaux augmente aussi exponentiellement. Pour JEANRENAUD (111) la concentration en lipides totaux serait comprise entre 600 et 850 mg par gramme de tissu frais. Enfin, selon HOLLIFIELD et PARSON, la concentration en lipides totaux augmente avec l'âge (105).

Compte tenu donc du poids des prélèvements analysés et de l'âge variable de nos animaux, nos résultats s'accordent avec ceux de BOSHART et JEANRENAUD (27),(111).

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'évaluation quantitative des lipides non phosphorés, les auteurs se référant en général aux triglycérides. JEANRENAUD (111) chez le Rat et GELLHORN et BENJAMIN chez l'Homme (67), situent la valeur du rapport triglycérides/lipides totaux entre 0,90 et 0,99. Du fait que plus de 90 % des lipides non phosphorés du tissu adipeux sont constitués de triglycérides, nos valeurs du rapport lipides non phosphorés/lipides totaux confirment les résultats rapportés par ces auteurs. Les valeurs de ce rapport apparaissent sensiblement plus élevées chez l'Homme que chez le Rat ($0,965 \pm 0,017$ pour le tissu adipeux humain et $0,936 \pm 0,040$ pour le tissu adipeux de Rat).

2. Les phospholipides totaux.

La concentration des phospholipides par gramme de tissu adipeux frais est faible. Plus élevée chez le Rat ($2,65 \pm 0,30$ mg) que chez l'Homme ($1,83 \pm 0,08$ mg), elle varie assez largement dans la même espèce d'un échantillon tissulaire adipeux à un autre (208) (229), probablement par la nature même du prélèvement, qui selon les cas est plus ou moins souillé de sang, ce qui contribue à élever notablement la concentration du phosphore lipidique de l'échantillon. SPENCER et DEMPSTER (208) relèvent dans le tissu adipeux de Souris une concentration en phospholipides de 2 à 4 mg/g de tissu frais. KANKARE et NIKKILÄ (117) dans une étude plus récente sur le tissu épидидymaire de Rat, rapportent des concentrations en phosphore lipidique plus faibles, 60 à 70 $\mu\text{g/g}$ de tissu frais ce qui correspond à 1,5 à 1,75 mg de phospholipides totaux.

Quoiqu'il en soit, cette très faible teneur en phospholipides du tissu adipeux contraste avec les autres tissus et constitue, avec sa forte concentration en lipides non phosphorés, deux des aspects originaux de la masse adipeuse. Cependant si l'on exprime le taux de phospholipides par gramme de tissu délipidé (obtenu en soustrayant du poids frais le poids de lipides totaux), on constate que les chiffres obtenus sont du même ordre que pour d'autres tissus comme par exemple le foie (4 %), les surrénales (1 %), le muscle squelettique (3,5 %), le thymus (5,2 %) et le diaphragme (4,5 %) (45) (49) (28) (30) (cf tableau IX).

RAT			HOMME		
Expériences	Tissu délipidé (poids en g)	% de Phospholipides	Expériences	Tissu délipidé (poids en g)	% de Phospholipides
1	1,4839	1,4	1	0,4608	1,3
2	0,9891	1,6	2	0,6181	1,3
3	1,0505	1,8	3	0,5609	2,1
4	0,7103	2,2	4	0,4910	1,2
5	1,7520	0,7	5	0,4767	1,6
6	0,2773	4,2	6	0,3923	1,3
7	1,0888	0,8			
8	2,0559	0,5			
9	0,8164	2,1			
10	0,9356	1,2			
11	0,9638	1,0			

TABLEAU IX

POURCENTAGE DE PHOSPHOLIPIDES TOTAUX

PAR GRAMME DE TISSU DELIPIDE DES

3. Répartition des phospholipides.

La répartition des différentes classes de phospholipides dans les deux types de tissus adipeux étudiés, semble obéir à la même règle. En effet, les nuances constatées sont mineures et portent surtout sur les phosphatylsérines et phosphatidylinositols, plus élevés chez le Rat et les phosphatidylcholines, plus abondants chez l'Homme.

Les valeurs que nous rapportons sont à rapprocher de celles publiées par SPENCER et DEMPSTER (208) sur le tissu adipeux blanc de Souris, et surtout de KANKARE et NIKKILÄ sur le tissu épидидymaire de Rat (117). Cependant nos résultats divergent de ceux de ces auteurs sur le pourcentage de polyglycérophosphatides, probablement du fait que les techniques de séparation employées sont différentes (chromatographie sur papier, ou bidimensionnelle sur couche mince de silicagel).

La proportion de sphingomyélines présente dans les phospholipides du tissu adipeux est importante, surtout si on la compare avec celle d'autres tissus, hépatique (45), intestinal (44), et musculaire (25) par exemple.

Le tissu adipeux apparaît relativement riche en polyglycérophosphatides. Les valeurs décrites sont supérieures à celles rapportées dans le tissu hépatique en particulier (45). Cette relative abondance en polyglycérophosphatides est intéressante à considérer dans la mesure où ces composés ont la propriété de se concentrer au niveau des mitochondries (142). Ceci nous conduit à penser que le tissu adipeux doit renfermer d'assez nombreuses mitochondries.

4. Les acides gras constitutifs des phospholipides.

La nature des acides gras intervenant dans la constitution des phospholipides est banale. Leur distribution, par contre, est plus intéressante : en effet, les valeurs relativement faibles des rapports désaturés/saturés contrastent d'une manière générale avec ceux relevés pour les phospholipides d'autres tissus, mais aussi plus particulièrement avec la grande richesse en acides gras désaturés du tissu adipeux.

Dans les lipides du tissu épидидymaire de Rat, les acides gras désaturés représentent environ 66 % des acides gras totaux, et l'acide gras prédominant est l'acide oléique (33 %). Le seul acide gras saturé abondant est l'acide palmitique dont le pourcentage maximum atteint à peine celui de l'acide linoléique (22,3 %) (69). Or parmi tous les phospholipides de ce même tissu, les seules fractions qui renferment des quantités importantes d'oléate sont les phosphatidyléthanolamines et phosphatidylcholines, qui par ailleurs sont les

fractions pondéralement les plus importantes, les acides prédominant étant le palmitate et le stéarate. Les mêmes constatations peuvent être faites pour le tissu adipeux humain. En effet l'acide oléique est aussi le plus important des acides intervenant dans la constitution des graisses de ce tissu, sa concentration étant toutefois plus élevée que chez le Rat (49,9 %) (68). Les phospholipides du tissu adipeux humain sont aussi plus riches en acide oléique que leurs homologues du tissu épидидymaire de Rat ; néanmoins, les acides prédominant restent , comme chez le Rat, le palmitate et le stéarate.

Donc, en tenant compte, d'une part de leur faible concentration, d'autre part de leur caractère fortement saturé, on peut être amené à considérer les phospholipides des tissus adipeux sous cutané abdominal humain et épидидymaire de Rat, comme des entités lipidiques, utilisant préférentiellement pour leur métabolisme les acides gras saturés, contrairement à tous les autres constituants lipidiques de ces tissus.

CONCLUSIONS

Au cours de ce travail, nous avons exposé les principales voies métaboliques au niveau du tissu adipeux, ainsi que leurs modes de régulation.

De plus nous avons réalisé l'analyse des Phospholipides des tissus, épидидymaire du Rat et sous-cutané abdominal de l'Homme. Les résultats de cette analyse ont révélé une grande similitude entre les deux tissus. Huit fractions différentes ont été isolées puis identifiées. Parmi elles, et contrairement à la plupart des autres tissus, les Polyglycérophosphatides et les Sphingomyélines sont relativement abondants.

La nature des acides gras constitutifs de ces Phospholipides est banale, l'acide palmitique étant le principal constituant.

Par contre la répartition des acides gras, indique clairement que les Phospholipides du tissu adipeux sont plus saturés que ceux des autres tissus.

Vu, le Président de Thèse :

Vu, le Doyen de la Faculté :

Professeur R. NORDMANN

Professeur MILLIEZ

Vu et Permis d'Imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris

R. MALLET

B I B L I O G R A P H I E

- 1.- ANGEL , A, et SHELDON, H. Adipose cell organelles : isolation morphology and possible relation to intracellular lipid transport. Ann. N.Y.Ac. Sci. 131, 157, 1965.
- 2.- ANTONY, G, WHITE, L.W, et LANDAU, B.R. : Metabolism of D and L glyc  raldehyde in Adipose tissue : a stereo - chemical Probe for glycerokinase activity. J. Lipid Res. 10, 521, 1969
- 3.- ASTWOOD, E, B, BARRETT, R,J, et FRIESEN, H, : Two metabolically active peptides from porcine pituitary glands. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 47 : 1525, 1961.
- 3.- Aulich, A., STOCK, K., WESTERMANN, E., Lipolytic effects of cyclic AMP and its Butyryl derivatives in vitro, and their inhibition by α and β adrenolytics. Life Sci., 6 929, 1967.
- 5.- BALL, E. G., and R.L. JUNGAS. Studies on the metabolism of adipose tissue. XIII. The effect of anaerobic conditions and dietary regime on the response to insulin and epinephrine. Biochemistry 2 : 586, 1963.
- 5.- BALL, E.G., and R.L. JUNGAS. Some effects of hormones on the metabolism of adipose tissue. Recent Progr. Hormone Res . 20 : 183, 1964.
- 7.- BALLY, P.R., G.F. CAHILL, and B. LEBOEUF. Studies on rat adipose tissue in vitro. V. Effects of glucose and insulin on the metabolism of palmitate - 1-C¹⁴ J. Biol. Chem; 235 : 333, 1960
- 8.- BALLY, P., G. F. CAHILL, B. LEBOEUF, and A. E. RENOLD. The action of glucose and insulin on the uptake of unesterified palmitic acid into adipose tissue. Helv. Med. Acta 26 : 691, 1959.
- 9.- BARRETT, A. M. The mobilization of free fatty acids in response to Isopr  naline in the Rat . Brit.J. Pharmacol. 25, 545, 1965.
- 10.- BARTLETT, J.R., A microtechnique for estimation of phosphorus J. Biol. chem : 234, 46, 1959.
- 11.- BEIGELMAN, P. M., and P.B. HOLLANDER. Effects of hormones upon adipose tissue membrane electrical potentials. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 116 : 31, 1964.

- 12.- BENJAMIN W. et GELLHORN A. The effect of diabetes and insulin on the synthesis of unsaturated fatty acids in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 42, 916, 1963.
- 13.- BENJAMIN W., GELLHORN A., WAGNER M. et KUNDEL H. Effect of aging on lipid composition and metabolism in the adipose tissue of the Rat. *Am. J. Physiol.* 201, 540, 1961.
- 14.- BERGER J. E., VAUGHAN M. et STEINBERG D. Monoglyceride lipase activity in rat adipose tissue. *Federation Proc.* 22, 303, 1963.
- 15.- BERGSTROM S. et CARLSON L. A. Inhibitory action of PGE₁ on the mobilization of free fatty acids and glycerol from Human adipose tissue in vitro. *Acta Physiol. Scand.* 63, 195, 1965.
- 16.- BERGSTROM S. et CARLSON L. A. Influence of the nutritional state on the inhibition of lipolysis in adipose tissue by prostaglandin E₁ and Nicotinic acid. *Acta Physiol. Scand.* 65, 383, 1965.
- 17.- BERGSTROM S., CARLSON L. A. et ORÖ L. Effect of prostaglandins on catecholamine-induced changes in the free fatty acids of plasma and in blood pressure in the dog. *Acta Physiol. Scand.* 60, 170, 1964.
- 18.- BERGSTROM S., CARLSON L. A. et ORÖ L. *Acta Physiol. Scand.* 67, 141, 1966.
- 19.- BERGSTROM S., CARLSON L. A. et ORÖ L. *Acta Physiol. Scand.* 67, 185, 1966.
- 20.- BERGSTROM S., DRESSLER F., KRABISCH L., RYHAGE R. et SJÖVALL J. The isolation and structure of a smooth muscle stimulating factor in normal sheep and tig lungs. Prostaglandin and related factors. *Arkiv. Kemi.* 20, 63, 1962.
- 21.- BERTI F., NAIMZADA K. M., LENTATI R., USARDI M.M., MONTEGAZZA P. et PAOLETTI R. *Prog. Biochem. Pharmacol.* 3, 110, 1967.
- 22.- BEZMAN A., FELTS J. M., and HAVEL R. J. Relation between incorporation of TG fatty acids and heparin released lipoprotein lipase from adipose tissue slices. *J. Lipid. Res.* 3, 427, 1962.

- 23.- BEZMAN A., FELTS J. M. and HAVEL R. J. The incorporation of TG fatty acid into adipose tissue as a fonction of lipoprotein lipase activity. Clin. Res. 10, 84, 1962.
- 24.- BLECHER M. et WHITE A. J. Biol. Chem. 235, 3 404, 1960.
- 25.- BOICHOT J. et DI COSTANZO G. Les lipides du muscle squelettique au repos chez le Rat. Bull. Soc. Chim. Biol. 50, 1 711, 1968.
- 26.- BORGSTRÖM B. et JORDAN P. Metabolism of chylomicron glyceride as studied by ^{14}C glycerol ^3H . palmitic acid labeled chylomicrons. Acta Soc. Med. Upsalien, 64, 185, 1959.
- 27.- BOSHART C. R., WILL L. et PIRRE A. Extractable lipid, Water and residue of Rat epididymal fat Bodies Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 110, 661, 1962.
- 28.- BOYD E. M. et CRANDELL E. M. The concentration of lipids and water in skeletal muscle of albinos rats bearing walker carcinoma 256, Canc. Res. 16, 198, 1956.
- 29.- BOYD E. M. and CRANDELL E. M. Mesenteric neutral fat in obese rats. Can. J. Biochem. Physiol. 36, 913, 1958.
- 30.- BOYD E. M., KELLY E. M., MURDOCH M. E. et BOYD C. E. Lipid and water levels in five organs of Albinos Rats bearing walker carcinosarcoma 256. Canc. Res. 16, 535, 1956.
- 31.- BRAGDON J. H. et GORDON R. S. Jr. Tissue distribution of ^{14}C after the intravenous injection of labeled chylomicrons and unesterified fatty acids in the rat. J. Clin. Invest. 37, 574, 1958.
- 32.- BUCKLE R. M. et BECK J. C. Modifying influence of glucose on fatty acid mobilising activities of epinephrine, ACTH and growth hormone in vitro. Metab. Clin. Exptl. 11, 235, 1962.
- 33.- BUCKLE R. M., RUBINSTEIN D., Mc GARRY E. E. and BECK J. C. Factors influencing the release of free fatty acids from rat adipose tissue. Endocrinology, 69, 1 009, 1961.

- 34.- BUTCHER R. W., BAIRD C. E., SUTHERLAND E. W. Effects of lipolytic and antilipolytic substances on adenosine 3'-5' mono phosphate levels in isolated fat cells. J. Biol. Chem. 243, 1 705, 1968.
- 35.- BUTCHER R. W., HO R. J., MENG H. C. et SUTHERLAND E. W. Cyclic 3'-5' AMP levels and free fatty acid (FFA) release. Abstract section. 6th. international. Congress. Biochem. N. Y. Sect. IX/9, 173, 1964.
- 36.- BUTCHER R. W., HO R. J., MENG H. C., SUTHERLAND E. W. Adenosine 3'-5' mono phosphate in biological materials. J. Biol. Chem. 240, 4 515, 1965.
- 37.- CAHILL G. F. Jr., LEOEUF B. and FLINN R. B. Studies on rat adipose tissue in vitro. VI. Effect of epinephrine on glucose metabolism. J. Biol. Chem. 235, 1 246, 1960.
- 38.- CAHILL G. F. Jr., LEOEUF B. and RENOLD A. E. Factors concerned with the regulation of fatty acid metabolism by adipose tissue. Am. J. Clin. Nutr. 8, 733, 1960.
- 39.- CAHILL G. F. Jr., LEOEUF B. and RENOLD A. E. The role of glycerol in hormonal effects of fat metabolism. Acta Endocrinol. 35, 941, Suppl. 51, 1960.
- 40.- CARLSON L. A. Inhibition of the mobilization of free fatty acids from adipose tissue. Ann. N. Y. Acad. Sci. 131, 119, 1965.
- 41.- CARLSON L. A. et EKELUND L. G. Splanchnic production und uptake of endogenous triglycerides in the fasting state in man. J. Clin. Invest. 42, 714, 1963.
- 42.- CHERKES A. et GORDON R. S. The liberation of lipoprotein lipase by heparin from adipose tissue incubated in vitro. J. Lipid. Res. 1, 97, 1959.
- 43.- CLEMENT G. et BEZARD J. Technique de dosage par chromatographie gaz-liquide d'un mélange d'acides gras, du butanoïque au docosanoïque. C. R. Acad. Scien. 253, 564, 1961.

- 44.- CLEMENT, J et DI COSTANZO, G. Séparation chromatographique. Identification et analyse des Phospholipides de la muqueuse intestinale de Rat à jeûn. Bull. Soc. Chim. Biol. 45, 127, 1963.
- 45.- CLEMENT, J et DI COSTANZO, G. Etude des Phospholipides hépatiques dans la stéatose provoquée par le tétrachlorure de Carbone : Arch. Scienc. Physiol. 22, 1 , 1968
- 46.- CORREL, J.W. Mobilization of unesterified fatty acids (UFA) from isolated rat adipose tissue by nerve stimulation, in vitro. Fédération Proc. 20, 275 1961.
- 47.- CROFFORD, O, B, et RENOLD, A.E, In Abstracts of Communications présentés at the First Meeting of the Federation of European Biochemical societies. LONDON 1964 p. 99. Insulin and glucose transport in adipose tissue.
- 48.- DAVOREN, P, R, et SUTHERLAND, E, W. The cellular location of adenyl cyclase in the pigeon erythrocyte. J. Biol. Chem. 238 : 3016, 1963.
- 49.- DI COSTANZO, G et DI COSTANZO, P. non publié.
- 50.- DI COSTANZO, P. Etude in vitro de l'incorporation par le tissu adipeux d'Acide palmitique marqué. Influence de l'Insuline et de l'Adrénaline. C.R. Acad. Sci. 254, 3576, 1962.
- 51.- DOLE, V, P. A relation between non esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose. J. clin. Invest. 35, 150, 1956.
- 52.- DOLE, V.P. The fatty Acid pool in adipose tissue. J. Biol. Chem. 236, 3121, 1961.
- 53.- DOLE, V.P. "Effect of Nucleic Acid Metabolites on lipolysis in Adipose Tissue" J. Biol. Chem. 236, 3125, 1961.
- 54.- EATON, R.P. In vitro inhibition of the fat mobilizing action of norepinephrine. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 114 : 599, 1963.
- 55.- EDMONSON, J,H, et GOODMAN, H, M, Effect of Reserpine on fatty acid mobilization. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 110, 761, 1962.

- 56.- ENGEL, F,L, et LEOVITZ, H, E. Peptide hormones. Some new developments and their clinical implications Am. J. Med. 35. 721. 1963.
- 57.- ENGEL, F, L, et WHITE, J.E. some hormonal influences on fat mobilization from adipose tissue. Am. J. Clin. Nutr. 8 : 691, 1960.
- 58.- ENGELBERG, H. Human endogenous lipemia clearing activity. Studies of lipolysis and effects of inhibitors. J. Biol. Chem. 222, 601, 1956.
- 59.- FAIN, J, N., SCOW, R, O, et CHERNICK S, S,. Effects of glucocorticoides on metabolism of adipose tissue in vitro. J. Biol. Chem. 238, 54, 1963.
- 60.- FASSINA, G. Antagonistic action of Metabolic inhibitors on Dibutyryl cyclic 3' - 5' AMP stimulated and caféine stimulated lipolysis, in vitro. Life Sci. 6, 825, 1967.
- 61.- FINE, M.B., AND R. H. WILLIAMS. Effect of fasting, epinephrine and glucose and insulin on hepatic uptake of nonesterified fatty acids. Am. J. Physiol 199 : 403, 1960.
- 62.- FISKE, C, H., SUBBAROW, J. A new method for estimation of mineral Phosphorus. J. Biol. Chem. 66, 375, 1925.
- 63.- FREINKEL, N. Extra thyroïdal actions of pituitary thyrotropin effects on the carbohydrate, lipid, and respiratory metabolism of rat adipose tissue. J. Clin. Invest. 40, 476, 1961.
- 64.- FRERICH, H, et BALL, E, G. Activation of phosphorylase by agents which stimulate lipolysis : Biochemistry. 1 : 501, 1962.
- 65.- FROESCH, E, R, BALLY, P, GUHL, U, RAMSEIER, E, et LABHARTA. The effect of glucagon on adipose tissue Schweiz. Med. Wochschr. 90, 1329, 1960.
- 66.- GANGULY, J. Studies on the mechanism of fatty acid synthesis VII. Biosynthesis of fatty acids from malonyl Co A. Biochim. Biophys. Acta 40 : 110, 1960.
- 67.- GELLHORN, A, BENJAMIN, W. In adipose tissue. Section 5. Handbook of Physiology. Edited by FENOLD, A et CAHILL G, F. Am. Physiol. Society. WASHINGTON 1965. page 661.

- 68.- GELLHORN, A et MARKS, P, A. The composition and biosynthesis of lipids in human adipose tissues. J. Clin. Invest. 40, 925, 1961.
- 69.- GELLHORN, A, BENJAMIN, W et WAGNER, M. The in vitro incorporation of acetate 1-¹⁴C into individual fatty acids of adipose tissue from young and old rats. J. lipid. Res. 3, 314, 1962.
- 70.- GILLMAN, J, GILBERT, C, EPSTEIN, E et ALLAN J, C. Endocrine control of blood sugar lipemia and ketonemia in diabetic baboons. Brit. Med. J. 2, 1260, 1958.
- 71.- GLENN, E, M, MILLER, W, L, et SCHLAGEL, C, A. Metabolic effects of Adrenalcortical stéroïdes in vivo and in vitro. Relation ship to Anti-inflammatory effects. Rec. Prog. Horm. Res 19, 107, 1963.
- 72.- GOLDBLATT, M, W. Properties of human seminal plasma. J. Physiol. 84, 208, 1935.
- 73.- GOLDMAN, P, et VAGELOS R, P. The specificity of Triglycéride synthesis from di-glycerides in chicken adipose tissue. J. Biol. Chem. 236, 2620, 1961.
- 74.- GORDON, R, S. Jr. Unesterified fatty acids in human blood plasma II. The transport function of unesterified fatty acid. J. Clin. Invest. 36. 810. 1957.
- 75.- GORDON, R, S, et CHERKES, A. Unesterified fatty acid in human blood plasma. I. J. Clin. Invest. 35, 206, 1956.
- 76.- GORDON R, S, CHERKES, A,. Production of unesterified fatty acids from isolated rat adipose tissue incubated in vitro. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 97, 150, 1958.
- 77.- GORIN, E, et SHAFRIR, E. Turnover of adipose tissue Triglycerides measured by the rates of synthesis and release of Triglyceride - glycérol. Biochim. Biophys. Acta : 70 : 109, 1963.
- 78.- GORIN, E et SHAFRIR, E. Lipolytic activity in adipose tissue homogenates toward Tri, Di, et Mono glycéride substrates. Biochim. Biophys. Acta. 84, 24, 1964.

- 79.- GURIN, S., and R.I. BRADY. The in vitro synthesis of lipids and its hormonal control. In : Recent Progress in Hormone Research, vol. 8, edited by G. Pincus. New York : Academic Press, 1953, p. 571.
- 80.- HAGEN, J, H,. Effect of Glucagon on the metabolism of adipose tissue. J. Biol. Chem : 236, 1023, 1961
- 81.- HAGEN, J, H et BALL, E, G : Studies on the metabolism of adipose tissue : the effect of Adrenaline on oxygen consumption and glucose utilization. Endocrinology : 69, 752, 1961.
- 82.- HAGEN, J.H., and P. B. HAGEN. An enzymic method for the estimation of glycerol in blood and its use to determine the effect of noradrenaline on the concentration of glycerol in blood. Can. J. Biochem. Physiol. 40 : 1129, 1962.
- 83.- HANAHAN, D, J., BROCKERHOFF, H., et BARRON E.J.. The site of attack of phospholipase. A on lecithin : a re-evaluation. Position of fatty acids on lecithins and triglycerides. J. Biol. Chem. 235. 1917. 1960.
- 84.- HANAHAN, D, J., DITTMER, J.C., et WARASHINA, E. J. Biol. Chem. 228, 685, 1957.
- 85.- HANNON, J.P., and A.M. LARSON. Fatty acid metabolism during norepinephrine induced thermogenesis in the cold acclimatized rat. Am. J. Physiol. 203 : 1055, 1962.
- 86.- HAUSBERGER, F.X. Influence of Insuline and cortisone on hepatic and adipose tissue metabolism of Rats Endocrinology : 63, 14, 1958.
- 87.- HAVEL, R. J. Catecholamines. In : Lipide Pharmacology, edited by R. Paoletti. New York : Academic Press. 1964 p. 357.
- 88.- HAVEL, R.J., FELTS, J.M., VANDUYNE, C.M., : Formation and fate of endogenous triglycerides in blood plasma of rabbits. J. Lipid. Res. 3, 297, 1962.
- 89.- HAVEL, R.J., et GOLDFIEN, A. The role of the sympathetic nervous system in the metabolism of free fatty acids. J. Lipid Res. 1, 102, 1959.

- 90.- HAVEL, R.J. , and A. GOLDFIEN. The role of the liver and extrahepatic tissues in the transport and metabolism of fatty acids and triglycerides in the dog. J. Lipid Res. 2 : 389, 1961.
- 91.- HAYNES, R, C, Jr. The activation of adrenal phosphorylase by the adrenocorticotrophic hormone. J. Biol. Chem. 233, 1220, 1958.
- 92.- HEIMBERG, M., and N.B. FIZETTE. The action of norepinephrine on the transport of fatty acids and triglycerides by the isolated perfused rat liver. Biochem. Pharmacol. 12. 292 1963.
- 93.- HELLMAN, B., LARSSON, S., et WESTMAN, S., : Mast cell content and fatty acid metabolism in the epididymal fat pad of obese mice. Acta Physiol. Scand. 58, 255, 1963.
- 94.- HILDITCH, T, P, : The chemical constitution of natural fats. New York : John Wiley and sons Inc. 1956 page 565.
- 95.- HIRSCH, J. : Composition of adipose tissue, as an organ, edité par L. W. Kinsell. Springfield Ill. C.C. Thomas 1962 p. 79, 81, 89.
- 96.- HIRSCH, J, FARQUHAR, J, W, AHRENS, E, H, PETERSON, M,L et STOFFEL, W. : Studies of adipose in man A microtechnique for sampling and analysis. Am. J. Clin. Nutri. 8, 499, 1960.
- 97.- HO, R.J.,and H.C. MENG. FFA production and release from perfused and incubated adipose tissue. Federation proc. 21 : 292, 1962.
- 98.- HO, R.J., and H.C. MENG. Release, uptake and metabolism of glycerol in the isolated perfused adipose tissue. Federation Proc. 22 : 276, 1963.
- 99.- HO, R.J. and H.C. MENG. Technique for the cannulation and perfusion of isolated rat epididymal fat pad. J. Lipid Res. 5 : 203, 1964.
- 100.- HOLLENBERG, C, H, . Effect of nutrition on activity and release of lipase from rat adipose tissue. Am. J. Physiol. 197 : 667, 1959.
- 101.- HOLLENBERG, C. H., and A. ANGEL. Relation of fatty acid structure to release and esterification of free fatty acids. Am. J. Physiol. 205 : 909, 1963.

- 102.- HOLLENBERG, C. H., and D.E. DOUGLAS. Effect of adrenaline, corticotropin, fasting, and diabetes on the composition of the long-chain fatty acid of rat epididymal fat. *Nature* 193 : 1074, 1962.
- 103.- HOLLENBERG, C, H., RABEN, M, S, et ASTWOOD, E, B. The lipolytic response to corticotropin. *Endocrinology* : 68, 589, 1961.
- 104.- HOLLETT, C.R. Adipose tissue : hormonal influence on distribution of lipolytic activity in homogenate fractions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 15/6 : 575, 1964.
- 105.- HOLLIFIELD, G et PARSON, W. Body composition and in vitro synthesis of lipids by adipose tissue of 11 - dehydrocorticosterone - treated mice. *Am. J. Physiol.* 197, 105, 1959.
- 106.- HOUSSAY, B.A. et BIASOTTI. The functional relations between pituitary and pancreas. *Endocrinology* 15, 511, 1931.
- 107.- HYNIE, S., KRISHNA, G., BRODIE, B. B. Theophylline as a Tool in studies of the role of cyclic adenosine 3' - 5' Monophosphate in hormone - induced lipolysis. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 153, 90 , 1966.
- 108.- JACOB, M, I., : Fatty Acid synthesis in cell free preparations of human adipose tissue : *Biochim. Biophys. Acta* 70, 231, 1963.
- 109.- JEANRENAUD, B, : Dynamic aspects of adipose tissue metabolism : a review : *Metabolism Clin. Exp.* 10 :535, 1961.
- 110.- JEANRENAUD, B : Fonctions and hormonal regulation of adipose tissue. *Helvetica. Med. Acta* : 30 : 1, 1963.
- 111.- JEANRENAUD, B, : In adipose tissue. Section 5. Handbook of Physiology. Edited by Renold, A et Cahill, G.F. *Am. Physiol. Society WASHINGTON* 1965 P.169.
- 112.- JEANRENAUD, B., et RENOLD, A. E. : Studies on rat adipose tissue in vitro. Metabolic patterns produced by varying insulin and glucose concentrations independently from each other. *J. Biol. Chem.* 234, 3082, 1959.

- 113.- JEANRENAUD, B., et RENOLD, A, E. : Studies on rat adipose tissue in vitro. VII. Effects of adrenal cortical hormones. J. Biol. Chem. 235, 2217, 1960.
- 114.- JEANRENAUD, B et RENOLD, A, E : Aspects de la lipogénèse et de la lipolyse dans le tissu adipeux : effets de certaines hormones stéroïdiennes. Bull. Soc. Chim. Biol. 46, 25, 1964.
- 115.- JELINKOVA - TENOROVA, M., and Z. HRUZA. The effect of epinephrine on fat metabolism in old rats. Gerontologia 7 : 168, 1963.
- 116.- JUNGAS, R. L., and E. G. BALL. Studies on the metabolism of adipose tissue. XII. The effects of insulin and epinephrine on free fatty acid and glycerol production in the presence and absence of glucose. Biochemistry 2 : 383, 1963.
- 117.- KANKARE, P., et NIKKILA, E. A., : composition and P^{32} turnover of phospholipids of Rat adipose tissue Acta Chem. Scand. 20, 2312, 1966.
- 118.- KERPEL, S., SHAFRIR, E., et SHAPIRO, B. : Mechanism of fatty Acid assimilation in adipose tissue. Biochim. Biophys. Acta 46 : 495, 1961.
- 119.- KINGSBURY, K, J, PAUL, S, CROSSLEY, A et MORGAN, D, M. The fatty acid composition of human depot fat. Biochem. J : 78, 541, 1961.
- 120.- KLAINER, L.M., CHI, Y, M., FREIDBERG, S, L., RALL, T, W, et SUTHERLAND, E, W / Adenyl cyclase IV. The effects of neurohormones on the formation of adenosine 3', 5' Phosphate by preparations from brain and other tissues. J. Biol. Chem. 237, 1239, 1962.
- 121.- KORN, E, D., et QUIGLEY, T. W. : Studies on lipoprotein lipase of rat heart and adipose tissue. Biochim. Biophys. Acta 18, 143, 1955.
- 122.- KORN, E.D., et QUIGLEY, T.W., : Lipoprotein lipase of chicken adipose tissue. J. Biol. Chem. 226, 833, 1957.
- 123.- KUJALOVA. V et B. MOSINGER. Mechanism of the lipolytic effect of epinephrine on adipose tissue. Biochem. Pharmacol. Suppl. to Vol. 12 : 196, abstr. 689, 1963.

- 124.- KUPIECKI, F, P., : "effects of prostaglandin E₁ on Lipolysis and plasma free fatty acids in the fasted Rat". J. Lipid. Res : 8, 577, 1967.
- 125.- LANDAU, B.R., KATZ, J., BARTSCH, G.E., WHITE, L.W., et WILLIAMS, H. R / Hormonal regulation of glucose metabolism in adipose tissue in vitro. Ann. N.Y. Acad. Sci. 131, 43, 1965.
- 126.- LARON, Z., KOWADLO, A. : Fat mobilizing effect of testosterone : Metabolism Clin. Exptl. 12.588, 1963
- 127.- LAURELL, S. : Distribution of ¹⁴C in Rats after intravenous injection of non - esterified Palmitic acid ¹⁴C . Acta Physiol. Scand. 46, 97 1959.
- 128.- LEBOEUF, B. Hormonal control of metabolism of Adipose tissue. Union Med. Canada 92, 241, 1963.
- 129.- LEBOEUF, B., et CAHILL, G, H : Effect of preparations of pituitary adrenocorticotropic and growth hormones on glucose metabolism. J. Biol. Chem. 236 41, 1961.
- 130.- LEBOEUF, B., R. B. FLINN, and G.F. CAHILL, Jr. Effect of epinephrine on glucose uptake and glycerol release by adipose tissue in vitro. Proc. Soc. Exp. Biol. Med . 102 : 527, 1959.
- 131.- LEBOEUF, B., RENOLD, A, E., et CAHILL, G, F : Further effects of cortisol on glucose metabolism. J. Biol. Chem. 237, 988, 1962.
- 132.- LE BRETON, E : Biochemical Problems of Lipids, edited by Popjak G et Le Breton E., 1956 LONDON, 412.
- 133.- LEE, H, M., ELLIS, R, M, BROMER, W, : Insulin like, activity of crystalline glucagon as measured with rat epididymal fat pad preparation. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104, 4, 1960
- 134.- LEVY, A, C, et RAMEY, E, R. : Depot fat mobilization in spinal cord sectioned and restrained rats : Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104, 124, 1965.
- 135.- LIPSETT, M, B, ENGEL, H, R., et BERGENSTAL, D, M. : Effects of glucagon on plasma unesterified fatty acids and in nitrogen metabolism. J. Lab. Clin. Med. 56, 342, 1960.

- 136.- LONG, C.N.H., et LUKENS, F.D.W., : effects of adrenalectomy and hypophysectomy upon experimental diabetes in the Cat. J. Exper. Med. 63, 465, 1936.
- 137.- LOPEZ, E, WHITE, J, E., et ENGEL, F, L. Contrasting requirements for the lipolytic action of corticotropin and epinephrine on adipose tissue in vitro. J. Biol. Chem. 234, 2254, 1959.
- 138.- LYNEN, F. : Mecanisme et régulation de la biosynthèse des acides gras.
Expos. Ann. Biochim. Med. 28, 1, 1967.
- 139.- LYNN, W. S., and E. EARNHARDT. Mechanism of action of insulin in adipose tissue (abstract). Clin. Res. 9 : 51, 1961.
- 140.- LYNN, W. S., R.M. MACLOED, and R.H. BROWN. Effects of epinephrine, insulin and corticotrophin on the metabolism of rat adipose tissue. J. Biol. Chem. 235 : 1904, 1960.
- 141.- Mc. CAMAN, R, E., COOK, K., "Intermediary Metabolism of Phospholipides in Brain - tissue ". J. Biol. Chem. 241, 3390, 1966.
- 142.- MAC FARLANE, M, G., GRAY, G, M., et WHEELDON, L. W : Fatty acid composition of Phospholipids from subcellular particules of Rat liver : Biochem. J. 77, 626, 1960.
- 143.- MARGOLIS, S, and VAUGHAN, M : α glycerophosphate synthesis and breakdown in homogenates of adipose tissue. J. Biol. Chem. 237 : 44, 1962.
- 144.- MARKSCHEID, L., et SHAFRIR, E. : Assimilation of lipoprotein triglyceride in vitro : comparison of various adipose tissues and lipoproteins and effect of lipoprotein lipase inhibitors. Israël J. Chem. 1, 205, 1963.
- 145.- MARSHALL, N.B. and F.L. ENGEL. The influence of epinephrine and fasting on adipose tissue content and release of free fatty acids in obese - hyperglycemic and lean mice. J. Lipid Res. 1 : 339, 1960.
- 146.- MARTIN, D.B., et VAGELOS P, R : The mechanism of Tri-carboxylic acid cycle regulation of fatty acid synthesis. J. Biol. Chem. 237, 1787, 1962.

- 147.- MARTIN, D., B., HORNING, M., G., et VAGELOS P. R :
Fatty Acid synthesis in adipose tissue. I . Puri-
fication and properties of long chain fatty acid
synthesizing system. J. Biol. Chem. 236 : 663 -
1961.
- 148.- MASORO, E, J, ROWELL, L, B, et Mc DONALD, R. M :
Skeletal Muscle Lipids. Biochim. Biophys. Acta
84, 493, 1964.
- 149.- MATTSON, F, H et LUTTON, E, S : The specific distri-
bution of fatty acids, in the glycerides of ani-
mal and vegetable fats. J. Biol. Chem. 233, 868,
1958.
- 150.- MIRSKY, I, A. : Effect of oxytocin, vasopressin and
related peptides in plasma free fatty acids. Am.
J. Physiol. 204 : 842, 1963.
- 151.- MIRSKY, I, A. et PERISUTTI, G. : Action of oxytocin
and related peptides on epididymal adipose tissue
of the rat. Endocrinology 71, 158, 1962.
- 152.- MOSINGER, B., and V. KUJALOVA. Relation between the
lipolytic effect of epinephrine and the effect
of insulin on adipose tissue (abstract 690).
Biochem.Pharmacol. , Suppl. 12 : 196, 1963.
- 153.- MUHLBACHOVA, E., M. WENKE, AND S. HYNIE. The effect
of adrenaline on depot adipose tissue. Physiol.
Bohemoslov. 10 : 44, 1961.
- 154.- MUNCK, A. The effect of cortisol on glucose uptake
by rat epididymalfat pads. Endocrinology 68 : 178,
1961.
- 155.- MUNCK, A. The effect in vitro of glucocorticoids on
net glucose uptake by rat epididymal adipose
tissue. Biochim. Biophys. Acta 48 : 618, 1961.
- 156.- MUNCK, A. Studies on the mode of action of glucocor-
ticoids in rats. II . The effects in vivo and
in vitro on net glucose uptake by isolated adipose
tissue. Biochim. Biophys. Acta. 57 : 318, 1962.
- 157.- MUNCK, A., et KORITZ, S.B., : Early effects of cor-
tisol on blood glucose and on entry of glucose
into muscle, liver, and adipose tissue.
Biochim. Biophys. Acta 57, 310, 1962.

- 158.- NAPOLITANO, L. : The differentiation of white adipose cells : an electron microscope study. J. Cell. Biol. 18, 663, 1963.
- 159.- NATHAN, D, G., CAHILL, G, F., et GARDNER, F, H : The effect of large doses of Testostérone on the body of Elderly Men. Metab. Clin. Exptl. 12, 850, 1963.
- 160.- OLIVECRONA, T. The metabolism of 1^{14} C palmitic acid in the rat. Acta Physiol. Scand. 54, 295, 1962.
- 161.- ORTH, R.D., W. D. ODELL, and R. H. WILLIAMS. Some hormonal effects on the metabolism of acetate 1-C^{14} by rat adipose tissue. Am. J. Physiol. 198 : 640, 1960.
- 162.- PAOLETTI, R., R. L. SMITH, R.P. MAICKEL, and B.B. BRODIE. Identification and physiological role of ~~nor~~epinephrine in adipose tissue. Biochem. Biophys. Res. Comm. 5: 424, 1961.
- 163.- PAWAR, S. "In vitro effect of Prostaglandin (PGE_1) on the Release of Glycerol and the Metabolism of Palmitic Acid in Rat Adipose tissue". Lipids 3, 383, 1968.
- 164.- POLONOVSKI, J. : Biochimie du tissu adipeux. Path. Biol. 5 : 1595, 1957.
- 165.- PORCELLATI, G. : Incorporation of 14 C - Choline and tritiated Inositol into Rat adipose tissue phospholipid, in vitro. Nature 215, 1189, 1967.
- 166.- POYART, C., VULLIEMOZ, Y., NAHAS, G. G., : "Influence of Acid pH on lipolysis Activated by ACTH, Glucagon, et cyclic AMP $3'5'$ ". J. Clin. Invest. 46, 1105, 1967.
- 167.- RABEN, M.S. , and C. H. HOLLENBERG : Uptake and release of fatty acids by adipose tissue. J. Clin. Invest. 38 : 1032, 1959.
- 168.- RABEN, M.S. , and C.H. HOLLENBERG : effect of glucose and Inuslin on the esterification of fatty acids by isolated adipose tissue. J. Clin. Invest. 39 : 435, 1960.

- 169.- RABEN, M, S., LANDOLT, R, SMITH, F, A, HOFMANN, K, YAJIMA, H. Adipokinetic activity of synthetic peptides related to corticotrophin. *Nature* 189, 681, 1961.
- 170.- RALL, T, W., et SUTHERLAND E, W. : Formation of a cyclic adenine ribonucleotide by tissue particles. *J. Biol. Chem.* 232. 1065, 1958.
- 171.- REICHL, D. Factors affecting the amount of free fatty acids in rat adipose tissue. *Physiol. Bohemoslov.* 12 : 62, 1963.
- 172.- REICHL, D., and V. FELT. The effect of glucose on fatty acid transport. Changes in unesterified fatty acid levels in adipose tissue. *Physiol. Bohemoslov.* 10 : 50, 1961.
- 173.- RESHEF, L. , and B. SHAPIRO. An acceptor for fatty acids in tissue particles. *Biochim. Biophys. Acta* 64 : 578, 1962.
- 174.- RESHEF, L, and SHAPIRO, B : "Uptake of free Acid by subcellular particles : *Išraël J. of. Chem.* 1 : 3 a, 1963.
- 175.- RESHEF, L., SHAFRIR, E., et SHAPIRO B. : In vitro release of unesterified fatty acids by adipose tissue. *Metab. Clin. Exptl* : 7 , 723, 1958.
- 176.- RIZACK, M.A. An epinephrine sensitive lipolytic activity in adipose tissue. *J. Biol. Chem.* 236 : 657, 1961.
- 177.- RIZACK, M.A. Activation of an epinephrine- sensitive lipolytic activity from adipose tissue by adenosine 3', 5' phosphate. *J. Biol. Chem.* 239 : 392, 1964.
- 178.- RIZACK, M. A : Mechanism of hormonal control of Adipose tissue lipase . *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 131, 250, 1965.
- 179.- ROBINSON, D, S. The lipolytic activity of adipose tissue. *Biochem. J.* 74, 25 P, 1960.
- 180.- ROBINSON, D. S., et FRENCH, J. E : Heparin, the clearing factor lipase and fat transport. *Pharmacol. Rev.* 12, 241, 1960.

- 181.- ROBINSON J. D., BRADLEY R. M. et BRADY R. O.
The utilization of substituted acyl. Coenzyma A derivatives in fatty acid synthesis. II. Studies with enzymes obtained from adipose tissue. *Biochemistry*, 2, 191, 1963.
- 182.- RODBELL M. The removal and metabolism of chylomicrons by adipose tissue in vitro. *J. Biol. Chem.* 235, 1 613, 1960.
- 183.- RODBELL M. Metabolism of isolated fat cells. I. Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis. *J. Biol. Chem.* 239, 375, 1964.
- 184.- RODBELL M. et SCOW R. O. Uptake and metabolism of chylomicrons by perfused rat adipose tissue. *Am. J. Physiol.* 208, 106, 1964.
- 185.- RONCARI D. A. K. Esterification of ^{14}C Palmitate by a subcellular preparation of Rat adipose tissue. *Canad. Med. Assoc. J.* 92, 366, 1965.
- 186.- ROSE, G. and SHAPIRO, B. Enzyme systems in adipose tissue participating in fatty acid esterification *Bull. Res. Council Israel* 9A, 15, 1960.
- 187.- RUDMAN D. The adipokinetic action of polypeptide and amine hormones upon the adipose tissue of various animal species. *J. Lipid. Res.* 4, 119, 1963.
- 188.- RUDMAN D. The mobilization of fatty acids from adipose tissue by pituitary peptides and catecholamines. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 131, 102, 1965.
- 189.- RUDMAN D. S., BROWN J. and MALKIN M. F. Adipokinetic action of adrenocorticotropin, thyroid stimulating hormone, vasopressin, and melanocyte stimulating hormones, Fraction H, epinephrine and norepinephrine in the rabbit, guinea pig, hamster, rat, pig and dog. *Endocrinology*, 72, 527, 1963.
- 190.- RUDMAN D., GARCIA L. A., BROWN S. J., MALKIN M. F. et PERL W. Dose response curves for the adipokinetic action of aromatic amines and adrenocorticotropin upon the isolated adipose tissue of the hamster. *J. Lipid. Res.* 5, 28, 1964.
- 191.- RUDMAN D., SEIDMAN F., BROWN J., HIRSCH R. L. Adipokinetic activity of porcine fraction H in the rabbit, guinea pig, rat and mouse. *Endocrinology* 70, 233, 1962.

- 192.- SCHOTZ M. C. et PAGE I. H. Effect of adrenergic blocking agents on the release of free fatty acids from rat adipose tissue. J. Lipid. Res. 1, 466, 1960.
- 193.- SCOW R. O. In clinical Endocrinology I (Astwood edition). New-York, Grune et Stratton, page 278-1960.
- 194.- SCOW R. O. In renold A. E. et Cahill G. F. Jr Eds. Handbook of physiology section V "Adipose tissue", page 437, Am. physiol. Society. Washington D. C., 1965.
- 195.- SCOW R. O., CHERNICK S. S. et GUARCO B. A. Ketonic action of pituitary and adrenal hormones in pancreatectomized rats. Diabetes, 8, 132, 1959.
- 196.- SHAFRIR E. and KERPEL S. Mechanism of epinephrine effect on fatty acid esterification and release in adipose tissue. Bull. Res. Council Israel, sect. A 10, 30, 1961.
- 197.- SHAFRIR E. and KERPEL S. Fatty acid esterification and release to the carbohydrate metabolism of adipose tissue : effect of epinephrine, cortisone and adrenalectomy. Arch. Biochim. Biophys. 105, 237, 1964.
- 198.- SHAFRIR E. et STEINBERG D. The essential role of the adrenal cortex in response of plasma free fatty acids, cholesterol and phospholipids to epinephrine injection. J. Clin. Invest. 39, 310, 1960.
- 199.- SHAPIRO B. In "digestion, absorption intestinale et transport des glycérides," éd. CNRS, Coll. intern. CNRS Marseille, 1960, Paris 1961, P 165.
- 200.- SHAPIRO B., CHOWERS I. et ROSE G. Assimilation of fatty acids by adipose tissue. In Biochemical problems of lipids, Butterworth, London and Interscience New-York, 1955, P 347.
- 201.- SHAPIRO B., CHOWERS I. and ROSE G. Fatty acid uptake and esterification in adipose tissue. Biochim. Biophys. Acta, 23, 115, 1957.
- 202.- SHAPIRO B., STATTER M. and ROSE G. Pathways of triglyceride formation in adipose tissue. Biochim. Biophys. Acta 44, 373, 1960.

- 203.- SHAPIRO B., WEISSMANN D., BENTOR V. et WERTHEIMER E.
Uptake of fat by adipose tissue in vitro. *Metab. Clin. Exptl.* 1, 396, 1952.
- 204.- SHELTON H. The fine structure of the fat cell. In
fat as a tissue, édité par K. Rodahl, New-York,
Mc Graw Hill, 1964, P 41.
- 205.- SIDMAN R. L., PERKINS M. and WEINER N. Noradrenaline
and adrenaline content of adipose tissues.
Nature, 193, 36, 1962.
- 206.- SMITH R. L., PAOLETTI R. and BRODIE B. B. Identification
and assay of noradrenaline in adipose tissue.
Biochem. J. 82, P 19, 1962.
- 207.- SOLYOM A., PUGLISI L., MUHLBACHOVA E. Effect in vitro
of theophylline and prostaglandin E₁ on FFA release
and on TG synthesis in Rat adipose tissue. *Biochem.*
Pharmacol. 16, 521, 1967.
- 208.- SPENCER W. A. et DEPSTER G. The lipids of mouse brown
fat. *Can. J. Biochem. Physiol.* 40, 1 705, 1962.
- 209.- SPITZER J. J. and Mc ELROY W. T. Jr Some hormonal
effects on uptake of free fatty acids by the liver.
Am. J. Physiol. 199, 876, 1960.
- 210.- STAHL E. Die Dünnschicht Kromatografie. *Pharmazie*,
11, 633, 1956.
- 211.- STEIN Y. In adipose tissue as an organ, édité par
L.W Kinsell. Springfield Ill. C.C. Thomas, 1962,
P 104.
- 212.- STEIN Y. et SHAPIRO B. Uptake and metabolism of
triglycerides by the rat liver. *J. Lipid. Res.*
1, 326, 1960.
- 213.- STEIN Y. et STEIN O. "The incorporation disappearance
of fatty acids in the rat epididymal fat pad,
studied by the in vivo incubation technique".
Biochim. Biophys. Acta, 60, 58, 1962.
- 214.- STEINBERG D., NESTEL P. J., BUSKIRK E. R. and
THOMPSON R. H. Relation between fat-mobilization
and hypermetabolism induced by norepinephrine
and by triiodothyronine. *J. Clin. Invest.* 42,
983, 1963.

- 215.- STEINBERG D., SHAFRIR E. et VAUGHAN M. Direct effect of glucagon on release of unesterified fatty acids from adipose tissue. Clin. Res. 7, 220, 1959.
- 216.- STEINBERG D., VAUGHAN M. and MARGOLIS S. Control of fatty acid release from adipose tissue through the control of the rate of triglyceride synthesis. J. Biol. Chem. 235, PC₃₈, 1960.
- 217.- STEINBERG D., VAUGHAN M. and MARGOLIS S. Studies of triglyceride biosynthesis in homogenates of adipose tissue. J. Biol. Chem. 236, 1 631, 1961.
- 218.- STEINBERG D., VAUGHAN M., MARGOLIS S. and KARMEN A. Triglyceride synthesis and free fatty acid (FFA) release in adipose tissue homogenates. Federation Proc. 19, 227, 1960.
- 219.- STEINBERG D., VAUGHAN M., NESTEL P. and BERGSTROM. S. Effects of prostaglandin E opposing those of catecholamines on blood pressure and on triglyceride breakdown in adipose tissue. Biochem. Pharmacol. 12, 764, 1963.
- 220.- STEINBERG D., VAUGHAN M., NESTEL P., STRAND O. and BERGSTROM S. Effects of the prostaglandins on hormone-induced mobilization of free fatty acids. J. Clin. Invest. 43, 1 533, 1964.
- 221.- STERN I. et SHAPIRO B. The transport of lipids into adipose tissue. Metab. Clin. Exptl. 3, 539, 1954.
- 222- STOCK K. et WESTERMANN E. Hemmung der lipolyse durch α -und β . Sympathicolytica, Nicotinsäure und prostaglandin E₁. Arch. Exptl. Patho. Pharmacol. 254, 334, 1966.
- 223.- STRAND O., VAUGHAN M. et STEINBERG D. Rat adipose tissue lipases : activity against triglycerides compared with activity against lower glycerides. J. Lipid. Res. 5, 554, 1964.
- 224.- SUTHERLAND E. W. The biological role of adenosine 3'-5' monophosphate. In Harvey lectures, Vol. 57, New-York, Academic. Press. 1961-62, P 17.

- 225.- SUTHERLAND E. W. et RALL T. W. The relation of AMP 3'-5' and phosphorylase to the actions of catecholamines and other hormones. Pharmacol. Rev. 12, 265, 1960.
- 226.- SUTHERLAND E. W., RALL T. W. et MENON T. Adenyl cyclase I. Distribution, preparation and properties. J. Biol. Chem. 237, 1 220, 1962.
- 227.- TOVE S. B. Effect of dietary oleate and linoleate on the distribution of fatty acids in mouse triglycerides. J. Nutr. 75, 361, 1961.
- 228.- TOVE S. B. et SMITH F. H. Changes in the fatty acid composition of the depot fat of mice induced by feeding oleate and linoleate. J. Nutr. 71, 264, 1960.
- 229.- VAGUE J. et GARRIGUES J. C. Studies on the composition of human adipose tissue and particularly its steroid content. Ann. Endocr. 16, 805, 1956.
- 230.- VAGUE J. et GARRIGUES J. C. Les stéroïdes du tissu adipeux humain. Sem. Hôp. Paris 33, 1 739, 1957.
- 231.- VAGUE J., GARRIGUES J., TEITELBAUM M., MILLER G. et FAVIER G. Notions de physiologie du tissu adipeux. Marseille Méd. 93, 497, 1956.
- 232.- VAUGHAN M. Effect of hormones on phosphorylase activity in adipose tissue. J. Biol. chem. 235, 3 049, 1960.
- 233.- VAUGHAN M. Effects of hormones on glucose metabolism in adipose tissue. J. Biol. Chem. 236, 2 196, 1961.
- 234.- VAUGHAN M. The metabolism of adipose tissue in vitro. J. Lipid. Res. 2, 293, 1961.
- 235.- VAUGHAN M. The production and release of glycerol by adipose tissue incubated in vitro. J. Biol. Chem. 237, 3 354, 1962.
- 236.- VAUGHAN M. and STEINBERG D. Effect of hormones on lipolysis and glyceride synthesis in adipose tissue. Federation Proc. 21, 284, 1962.
- 237.- VAUGHAN M. and STEINBERG D. Effect of hormones on lipolysis and esterification of free fatty acids during incubation of adipose tissue in vitro. J. Lipid. Res. 4, 193, 1963.

- 238.- VAUGHAN M. and STEINBERG D. The epinephrine-sensitive lipase tissue. *Federation Proc.* 22, 303, 1963.
- 239.- VAUGHAN M., BERGER J. E. et STEINBERG D. Hormone sensitive lipase and monoglyceride lipase activities in adipose tissue. *J. Biol. Chem.* 239, 401, 1964.
- 240.- VAUGHAN M., STEINBERG D. and PITTMAN R. On the interpretation of studies measuring uptake and esterification of palmitic acid-1-C¹⁴ by rat adipose tissue in vitro. *Biochim. Biophys. Acta* 84, 154, 1964.
- 241.- VEERKAMP J. H., MULDER I. et VAN DEENEN L. L. M. Comparison of the fatty acid composition of lipids from different animal tissue including some tumours. *Biochim. Biophys. Acta* 57, 299, 1962.
- 242.- VERNER J. V., BLACKARD W. G. et ENGEL F. L. Some factors modifying the actions of hormones on glucose uptake by adipose tissue in vitro. *Endocrinology* 70, 420, 1962.
- 243.- VON EULER U. S. Short communication on the specific hypotensive substance from the secretion of the human prostate and seminal vesicle. *Klin. Wochsch.* 33, 1 182, 1935.
- 244.- WAGNER H., HORHAMMER L. et WOLFF P. Dünnschicht-chromatographie von phosphatiden und glykolipiden. *Bioc. Zeit.* 334, 175, 1961.
- 245.- WAGNER H., SEELIG E. et BERNHARD K. The turn over of linoleic acid in the rat. *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* 313, 235, 1958.
- 246.- WAGNER H., WAGNER O. et BERNHARD K. Studies on the fate of linoleic acid in animals. *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* 323, 105, 1961.
- 247.- WASSERMANN F. et Mc DONALD T. F. Electron microscopic study of the structure of the fat all as related to function. *Argonne Nat. Lab. ANL 6264*, 68, 1960.
- 248.-
WASSERMANN F. et Mc DONALD T. F. Electron microscopic study of adipose tissue with special reference to the transport of lipids between blood and fat cells *Z. Zellforsch. Mikros. Anat. Abt. Histochem.* 59, 326, 1963.

- 249.- WEBER G., BANERJEE G. et ASHMORE J. Activities of enzymes involved in glycolysis, glucogenesis and hexosemonophosphate shunt in rat adipose tissue . Biochem. Biophys. Res. Comm. 3, 182, 1960.
- 250.- WEISS B., DAVIES J. I., BRODIE B. B. Evidence for a role of adenosine 3'-5' monophosphate in adipose tissue lipolysis. Biochem. Pharmacol. 15, 1 553, 1966.
- 251.- WEISS S. B. et KENNEDY E. P. The enzymatic synthesis of triglycerides. J. Am. Chem. Soc. 78, 3 550, 1956.
- 252.- WEISS S. B., KENNEDY E. P., KIYASU J. Y. The Enzymatic synthesis of triglycerides. J. Biol. Chem. 235, 40, 1960.
- 253.- WENKE M. Effects of catecholamines on lipid mobilization. Advan. Lipid. Res. 4, 69, 1966.
- 254.- WENKE M. , MÜHLBACHOVA E., HYNIE S. and DOLEJSOVA K. Metabolic effects of catecholamines. Physiol. Bohemoslov. 12, 43, 1963.
- 255.- WERTHEIMER E. et SHAPIRO B. The physiology of adipose tissue. Physiol. Rev. 28, 451, 1948.
- 256.- WHITE J. E. et ENGEL F. L. The specificity of epinephrine induced lipolysis in rat adipose tissue in vitro. Clin. Res. 6, 266, 1958.
- 257.- WHITE J. E. et ENGEL F. L. A lipolytic action of epinephrine and norepinephrine on rat adipose tissue in vitro. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 99, 375, 1958.
- 258.- WHITE J. E. et ENGEL F. L. Lipolytic action of corticotrophin on rat adipose tissue in vitro J. Clin. Invest. 37, 1556, 1958.
- 259.- WILLIAMSON J. R. Adipose tissue : morphological changes associated with lipid mobilization. J. Cell. Biol. 20, 57, 1964.
- 260.- WINAND J., FURNELLE J. et CHRISTOPHE J. Métabolisme in vitro du tissu adipeux V. Hétérogénéité et subhétérogénéité du pool des NEFA dans le tissu adipeux épидидymaire de la souris normale. Effets in vitro du glucose, de l'adrénaline et de l'insuline. Bull. Soc. Chim. Biol. 49, 1 331, 1967.

- 261.- WINAND J., FURNELLE J. et CHRISTOPHE J. Métabolisme in vitro du tissu adipeux VII. Métabolisme du (1-¹⁴C) palmitate dans le tissu épидидymaire de la souris normale et de la souris obèse. Hyperglycémique de Bar Harbor. Bull. Soc. Chim. Biol. 51, 343, 1969.
- 262.- WINEGRAD A. I., SHAW W. N., LUKENS F. D. et STADIE W. C. Lipogenesis in adipose tissue. Am. J. Clin. Nutr. 8, 651, 1960.
- 263.- WOOD F. C. Jr., LEBOEUF B. and CAHILL G. F. Jr. Metabolic role of glucose, a source of glyceride, glycerol in controlling the release of fatty acids by adipose tissue. Diabetes, 9, 261, 1960.
- 264.- ZIERLER K. L., ROGUS E., KLASSEN G. A. et RABINOWITZ D. Flux of palmitic acid across the adipose tissue membrane. Ann. N. Y. Acad. Sc. 131, 78, 1965.

-:-:-:-:-

- SOMMAIRE -

	page
<u>Introduction</u>	2
<u>Ière Partie :</u>	3
<u>Le Métabolisme du tissu adipeux.</u>	
<u>I - Méthodes d'études du Métabolisme</u>	4
<u>II- Le Métabolisme du tissu adipeux</u>	5
I/ <u>La_Biosynthèse_des_Acides_gras_</u>	5
1) Saturés	6
2) Insaturés	7
II/ <u>La_Captation_des_lipides_circulants</u>	8
a) étude histologique	9
schémas	10, 11
b) étude biochimique	12
1- Captation des Triglycérides	12
- in vitro	12
schéma	14
- in vivo	15
schéma	18
2- Captation des Acides gras libres ...	20
- in vitro	20
- in vivo	25
III/ <u>La_synthèse_endogène_des_Triglycérides</u> <u>(Lipogénèse)</u>	26
A/ Les voies	26
Résumé des voies principales (schéma)	30
B/ Les Régulations	31
1) Capacité endogène d'estérification	31
2) Régulation par les glucides	31
Mécanisme d'action du glucose (schéma). ..	33
3) Régulation par l'Insuline	34
4) Régulation par les hormones lipolytiques ..	35
5) Régulation par les Corticostéroïdes ...	37
schéma récapitulatif	39
IV/ <u>La_dégradation_des_Triglycérides_(lipolyse)</u> ..	40
I/ Etude biochimique	41
A - Les mécanismes	41
1) lipolyse et activité lipoprotéine lipasique	41

2) lipase hormonosensible	41
3) mono et diglycérides lipases	44
B - les Régulations	45
1) Valeurs normales	45
2) Régulation métabolique	45
3) Régulation hormonale	46
a) les hormones lipolytiques	46
b) rapports, structure/ activité ...	46
c) action des catécholamines,	
ACTH, glucagon, TSH	47
schéma	49
d) les hormones antilipolytiques	51
Résumé des mécanismes régulateurs de	
la lipolyse (schéma)	53
4) Régulation nerveuse	54
II/ étude microscopique	55
schéma	56

IIème Partie :

Les constituants lipidiques du tissu adipeux.

<u>Contribution à l'étude analytique des Phospholipides des</u>	
<u>tissus adipeux épидидymaire de Rat et sous-cutané-abdomi-</u>	
<u>nal de l'Homme</u>	57

<u>Introduction</u>	58
I - <u>Les lipides non phosphorés</u>	58
1) les Triglycérides	58
2) les Acides gras libres	60
3) l'insaponifiable	60
II - <u>Les lipides phosphorés</u>	60
A/ <u>Matériel et Méthodes</u>	61
1) prélèvement du tissu épидидymaire de Rat ..	61
2) prélèvement du tissu sous cutané abdomi- nal de l'Homme	61
3) préparation de l'extrait lipidique	61
4) préparation de l'extrait phospholipidique total	62
5) fractionnement des divers phospholipides .. schémas des chromatogrammes sur couche mince de Silicagel	63 - 64-66
6) microdosage du phosphore lipidique	67
7) analyse des Acides gras des phospholipides .	67
8) schéma récapitulatif des différentes phases de fractionnement et d'analyse des phospho- lipides	69
B/ <u>Résultats</u>	70
1) étude quantitative des lipides totaux et non phosphorés	70
- tissu adipeux épидидymaire de Rat :	71
tableau I	71
- tissu adipeux sous-cutané abdominal de l'Homme : tableau II	72
2) étude des concentrations des phospholipides totaux	70
- tissu épидидymaire de Rat :	73
tableau III	73
- tissu sous-cutané abdominal de l'Homme : tableau IV	74
3) étude qualitative et quantitative des diffé- rents phospholipides	75

- tissu épидидymaire de Rat :	
tableau V	76
- tissu sous-cutané abdominal de l'Homme :	
tableau VI	77
4) Analyse des Acides gras constitutifs des	
différents phospholipides	75
- tissu épидидymaire de Rat :	
tableau VII	78
- tissu sous-cutané abdominal de l'Homme :	
tableau VIII	79
a) Acides gras saturés	80
b) Acides gras insaturés	81
- chromatogrammes des Acides gras des diffé-	
rents Phospholipides (Rat et Homme) ...	82,83
	84,85,86
	87,88,89
C/ <u>Discussions</u> :	90
1) lipides totaux et non phosphorés	90
2) phospholipides totaux	91
% des phospholipides par gramme de tissu	
adipeux délipidé (Rat et Homme) :	
tableau IX	92
3) répartition des phospholipides	93
4) les acides gras constitutifs des Phospho-	
lipides	93
<u>Conclusions générales</u>	95
<u>Bibliographie</u>	96
<u>Sommaire</u>	

